TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

(1900-1928)

DE

M. Alexandre GUILLIERMOND

Professeur à la Faculté des Sciences de Paris

LAVAL

IMPRIMERIE BARNÉOUD

1928

TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

FONCTIONS UNIVERSITAIRES

1913. — Chargé d'un cours de Botanique agricole à la Faculté des Sciences de Lyon.
1923. — Chargé du cours de Botanique P. C. N. à la Faculté des Sciences de Paris.
1927. — Professeur à la Faculté des Sciences de Paris.

GRADES UNIVERSITAIRES ET TITRES HONORIFIQUES

1902. — Docteur ès Sciences naturelles (Faculté des Sciences de Paris).
1904. — Lauréat de l'Institut (Prix Desmazières : M. G. Bonnier, rapporteur).
1909. — Lauréat de l'Institut (Prix Montagne : M. Mangin, rapporteur).
1910. — Membre correspondant de la Société de Biologie de Paris.
1919. — Vice-Président de la Société Mycologique de France.
1920. — Secrétaire général et fondateur de la Société de Biologie de Lyon (filiale de la Société de Biologie de Paris).
1921. — Membre correspondant de la Société des Sciences naturelles de Lisbonne.
1922 et 1923. — Mis en ligne par la Section de Botanique de l'Académie des Sciences pour une place de correspondant.
1923. — Vice-Président de l'Association des Anatomistes.
1924. — Vice-Président de la Société Mycologique de France.
1924. — Membre titulaire de la Société de Biologie de Paris.
1925. — Président de la Société Mycologique de France.
1926. — Vice-Président de la Section de Botanique de l'A. F. A. S., Congrès de Lyon.
1926. — Membre du Conseil de la Société Botanique de France.
1926. — Membre honoraire de la Société de Microbiologie de Leningrad.
1928. — Membre du Conseil de la Fédération des Sociétés des Sciences naturelles.

INTRODUCTION

L'enseignement donné à Lyon, au cours de mes études de P. C. N. et de Licence, par MM. Caullery et Sauvageau, a déterminé ma vocation biologique. C'est à M. Caullery, qui n'a jamais cessé de suivre ma carrière scientifique, que je dois d'avoir été mis en relation avec l'Institut Pasteur, et en particulier avec M. Mesnil auprès duquel j'ai trouvé d'utiles directives pour mes recherches.

Orientation de la carrière scientifique.

J'ai orienté mes études vers la Botanique, parce que cette partie de la Science me paraissait plus propre à éclairer certains problèmes de Biologie générale que l'étude complexe des Animaux.

Au moment où j'ai commencé les recherches qui m'ont conduit à ma thèse de Doctorat, c'est-à-dire en 1899, M. Sauvageau avait quitté Lyon, mais ses leçons si suggestives sur la sexualité des Champignons et des Algues m'avaient laissé entrevoir des horizons nouveaux et séduisants. J'avais été frappé par l'intérêt des études cytologiques et par l'utilité qu'on pouvait en retirer pour établir une connaissance plus exacte du développement, de la sexualité et de la taxinomie des Thallophytes.

D'autre part, mon attention avait été attirée par la lecture du Traité de microbiologie de Duclaux sur l'obscurité qui régnait à ce moment sur les affinités systématiques des Levures. C'est dans l'espoir de découvrir des phénomènes sexuels au cours du développement de ces Champignons et par là de résoudre le problème toujours ouvert de leur origine, que j'ai entrepris mes premières recherches. Mais il y avait là une difficulté à vaincre : il fallait aborder au préalable l'étude cytologique des Levures, et, à cette époque, bien que les idées les plus contradictoires régnassent à ce sujet, on admettait volontiers que les Levures se distinguaient des autres Champignons par une structure primitive, très spéciale.

Etude cytologique des Levures.

Le programme que je m'étais tracé paraissait évidemment fort ardu pour un débutant, et les Levures, d'ailleurs, avaient été à d'autres points de vue l'objet des belles recherches de M. Hansen ; il semblait que tout ce qui touche leur développement était connu. Et cependant mes espérances furent dépassées.

Livré à mes propres ressources, j'ai éprouvé d'abord de très sérieuses difficultés de technique et d'interprétations qui m'auraient arrêté si le hasard ne m'avait mis en relation avec M. Matruchot. Ce Maître, dont je tiens à évoquer ici le souvenir ému et

reconnaissant, m'accueillit avec cette bienveillance si connue de tous ceux qui l'ont approché. Il voulut bien consacrer de longues heures à l'examen de mes préparations. Précisément, il se trouvait qu'à ce moment, dans des recherches en cours sur une petite Algue, le *Stichococcus bacillaris*, M. Matruchot avait mis en évidence une structure qui rappelait beaucoup celle des Levures que j'étudiais, et les résultats obtenus par M. Matruchot affermirent mes interprétations hésitantes. C'est grâce aux conseils judicieux de ce savant et à la haute compétence qu'il avait acquise par ses remarquables travaux sur les Champignons que je dois d'avoir réussi à achever mes recherches et à soutenir ma thèse de Doctorat.

L'orientation de mes recherches a été d'abord dirigée dans le domaine des Champignons, sous l'influence de M. Matruchot et de l'Institut Pasteur.

Depuis lors et jusqu'à la fin de sa vie, M. Matruchot a toujours suivi de très près mes travaux et ne cessa pas de me donner les conseils les plus précieux pendant ma carrière scientifique. Après ma soutenance de thèse, il me fit l'honneur de me réserver une place dans le laboratoire dont on venait de lui confier la direction à l'Ecole Normale Supérieure. C'est dans ce laboratoire que, pendant longtemps, je m'installai pendant plusieurs mois, chaque année, pour y achever mes recherches commencées à Lyon et les heures que j'y ai passé restent parmi les plus agréables souvenirs de ma vie scientifique.

Sexualité et phylogénie des Levures.

L'étude des Levures m'a offert une mine inépuisable qui, pendant dix ans, a occupé toute mon activité scientifique. Cette étude m'a permis de reconnaître que les Levures ont une structure analogue à celle des autres Végétaux, avec un noyau bien caractérisé, et de mettre en évidence, dans ce groupe de Champignons, l'existence de phénomènes sexuels qui y étaient insoupçonnés, et qui, par leur diversité, leurs caractères spéciaux et toute une série de formes régressives, offraient un grand intérêt au point de vue biologique.

La découverte de la sexualité avait pour conséquence de résoudre le problème tant cherché depuis Pasteur de l'origine des Levures en démontrant que les Levures ne sont pas des formes du développement de Champignons plus évolués, mais constituent un groupe autonome d'Ascomycètes inférieurs.

Sexualité des Endomycétacées et phylogénie des Levures.

Ces résultats m'ont conduit à aborder ensuite l'étude du développement et de la sexualité d'un autre groupe d'Ascomycètes inférieurs ou Protoascées, très voisin des Levures, les Endomycétacées, dont la connaissance était restée dans l'ombre. L'étude complète de ce groupe, que j'ai pu réaliser, m'a permis d'établir une liaison plus étroite entre les Levures et les autres représentants des Ascomycètes, et, par là, de jeter un jour nouveau sur le problème jusqu'ici impénétrable de la phylogénie des Levures.

L'ensemble de ces faits a été ensuite rassemblé dans un livre intitulé : *Les Levures*, dont M. Mangin a bien voulu me confier la rédaction, dans l'Encyclopédie Scientifique, et qui a été traduit ensuite en Amérique.

Phylogénie des Ascomycètes.

Ces recherches ont été complétées par l'étude que j'ai faite récemment d'un Ascomycète inférieur, le *Spermophthora Gossypii* isolé d'une maladie des graines de Cotonnier par Ashby et Nowell et qui n'avait été de la part de ces auteurs que l'objet d'une courte description. Ce curieux Champignon présente des caractères intermédiaires entre les Siphomycètes et les Ascomycètes. Par son mycélium primaire ou gamétophyte, dépourvu de toute cloison, il montre les caractères d'un Siphomycète, tandis que par sa sexualité et le développement de sa zygospore en un mycélium secondaire ou sporophyte, à cellules uninucléées, donnant naissance à des asques typiques, il se rattache incontestablement aux Ascomycètes. L'étude de la cytologie et de la sexualité du *Spermophtora* m'a donc amené à le considérer comme une forme très archaïque d'Ascomycètes. Elle apporte une preuve indéniable en faveur de l'opinion soutenue par M. Dangeard qui admet que les Ascomycètes dérivent des Siphomycètes et éclaircit beaucoup la question si controversée de la phylogénie des Ascomycètes. Ces recherches m'ont permis de formuler une théorie nouvelle sur la phylogénie des Ascomyètes qui complète celle que j'ai exposée antérieurement sur la phylogénie des Levures.

Recherches sur les corpuscules métachromatiques.

A la suite de mes recherches sur les Levures et les Ascomycètes inférieurs, j'ai été amené vers une série d'idées qui ont été le point de départ d'autres recherches poursuivies entre temps. C'est ainsi que j'ai pu mettre en évidence, dans les Levures, la présence de nombreuses granulations déjà signalées, mais mal interprétées, et que j'ai identifiées aux corpuscules métachromatiques depuis longtemps décrits par M. Babès dans les Bactéries. L'importance que paraissent avoir ces formations dans les Levures et les Bactéries me conduisit à rechercher leur présence dans toute la série végétale et à essayer de préciser leur rôle.

Ces recherches qui m'ont amené à observer l'évolution des grains d'aleurone des graines et à étudier les granulations des « Mastzellen » des Animaux, m'ont permis de constater la présence des corpuscules métachromatiques dans tous les Végétaux inférieurs (Bactéries, Algues, Champignons), ainsi que dans les Protozoaires, et de montrer que ces corps se comportent comme des produits de réserve.

Cette question présentait un certain intérêt, car elle ouvrait de nouveaux aperçus relatifs à la signification des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries : les Bactériologistes livrés à leurs propres ressources, sans le secours des résultats obtenus en cytologie générale, leur avaient donné des interprétations contradictoires et erronées. D'abord interprétés comme des spores, puis comme des noyaux, les corpuscules métachromatiques étaient considérés par un grand nombre de Bactériologistes, entre autre par Behring, comme des toxines.

Mitoses et évolution nucléaire des Ascomycètes.

L'étude de l'évolution des corpuscules métachromatiques dans l'épiplasme des Ascomycètes supérieurs m'a fourni l'occasion, en même temps, d'aborder l'étude de la formation des asques et des mitoses des Ascomycètes et d'obtenir ainsi quelques données précises sur l'évolution nucléaire si controversée de ces Champignons.

Etude cytologique des Cyanophycées et des Bactéries.

Enfin, l'expérience que j'avais pu acquérir par mes études sur la Cytologie fine des Levures me donna l'idée d'aborder la même question chez les Cyanophycées et les Bactéries, les seuls êtres vivants où la présence d'un noyau était contestée. Dans les recherches effectuées sur les Cyanophycées, j'ai pu démontrer l'existence dans ces Végétaux, les plus inférieurs que l'on connaisse, d'une structure très primitive, avec un noyau d'organisation inférieure mais incontestable. Par contre, mes recherches sur les Bactéries n'ont pas abouti à mettre en évidence un noyau chez ces microorganismes, et j'ai dû me rallier à l'opinion de Schaudinn et admettre l'existence d'un noyau diffus, ce qui évidemment n'est qu'une hypothèse.

Ces recherches reprises dans ces dernières années ont abouti à cet important résultat, qu'il n'existe que de très lointains rapports entre les Bactéries et les Cyanophycées et que l'on doit renoncer à la théorie classique qui considère les Bactéries comme des Cyanophycées ayant perdu leur chlorophylle.

Etude des mitochondries.

La nature de mes recherches m'avait depuis longtemps mis en relation avec le Laboratoire d'Histologie de la Faculté de Médecine de Lyon, dirigé par M. Renaut, et où M. Regaud, aujourd'hui directeur du Laboratoire de Radiobiologie de l'Institut Pasteur, exerçait la fonction d'agrégé Par l'intermédiaire de M. Renaut, je fis ensuite la connaissance de M Henneguy, le maître de la Cytologie, qui m'a toujours honoré de ses conseils et entouré de la plus affectueuse sollicitude.

C'est, il y a une vingtaine d'années, après avoir achevé mes travaux sur les Protoascées, que sous l'influence de M. Regaud, et, un peu plus tard, sous celle de M. Henneguy, j'ai suivi une nouvelle orientation et que je me suis attaché aux questions relatives à la constitution morphologique du cytoplasme. M. Regaud venait de terminer ses importantes recherches sur les mitochondries dans les cellules animales et d'instituer une nouvelle et précieuse technique portant le nom de « méthode de Regaud » que j'ai appliquée aux tissus végétaux, ce qui m'a permis de résoudre l'importante question de l'origine et de l'évolution des petits organites connus dans les cellules des Végétaux, depuis les remarquables travaux de William Schimper, sous le nom de plastes, plastides ou leucites.

C'est cette question des mitochondries sur laquelle s'est exercée presque exclusivement mon activité jusqu'à ces dernières années.

Cette étude, plus vaste que toutes celles que j'avais abordées jusqu'ici, m'a permis de constater l'existence, dans toute la série végétale, de mitochondries, organites constitutifs du cytoplasme, doués du pouvoir de se diviser et paraissant jouer un rôle important dans la physiologie cellulaire et de démontrer que les plastes dans lesquels s'élabore la chlorophylle et qui deviennent des grains de chlorophylle, ne sont pas autre chose que des mitochondries.

Evolution des plastes et origine des grains de chlorophylle.

L'origine et l'évolution des plastes, bien connus seulement dans leurs formes définitives, étaient restées très obscures et très controversées surtout dans les Phanérogames parce que l'on ne connaissait pas, jusqu'alors, de technique propre à leur conservation et à leur coloration. Grâce à mes travaux et à ceux de mes élèves que

j'ai dirigés dans cette voie afin de hâter la solution de ce problème trop étendu pour mes seules recherches, j'ai pu établir une connaissance plus exacte de la cellule végétale et des éléments constitutifs du cytoplasme.

L'ensemble de mes études m'a amené à la conclusion que la cellule végétale offre une structure tout à fait semblable à celle de la cellule animale, avec cette seule différence qu'elle possède une variété spéciale de mitochondries, les plastes, qui ont le pouvoir d'élaborer de la chlorophylle et de l'amidon. J'ai été amené, en outre, à faire connaître d'une manière très précise, les phénomènes cytologiques de l'amylogénèse et de la formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. Il serait difficile de contester que cette question, en dehors de son intérêt biologique général, offre au point de vue strictement botanique une importance considérable, puisqu'il s'agit de l'étude d'organites cellulaires qui servent de substratum à la chlorophylle et qui sont le siège de la photosynthèse, cette fonction qui domine toute la physiologie des Végétaux verts.

Observations cytologiques sur les cellules vivantes.

Enfin, cette étude m'a amené à trouver des cellules, comme celles de l'épiderme de certaines fleurs de Monocotylédones et le thalle des Saprolégniacées, particulièrement favorables aux observations directes, sur le vivant, sans l'intervention de colorants ou de réactifs microchimiques. J'ai pu ainsi réaliser les observations vitales les plus importantes qui aient été faites jusqu'alors, observer les mouvements et les déplacements des mitochondries, étudier leur variabilité de forme, leurs altérations, leur comportement vis-à-vis des réactifs, etc. J'ai enfin apporté une contribution à l'étude de la fixation du cytoplasme et apprécié la valeur des techniques cytologiques.

J'ai insisté sur l'intérêt des études vitales trop négligées jusqu'alors et sur la nécessité qu'il y a, pour obtenir une démonstration en cytologie, de toujours recourir au contrôle de l'observation vitale. Par là, je pense avoir contribué à donner à la cytologie une orientation nouvelle. J'ai eu, depuis, la grande satisfaction de constater que j'avais été suivi dans cette voie, et depuis 1913, date de mes premières recherches, les observations vitales se sont multipliées, aussi bien en cytologie végétale qu'en cytologie animale. Enfin, grâce à l'impulsion donnée par ces recherches, la question de la constitution morphologique du cytoplasme de la cellule végétale a été l'objet d'un nombre considérable de travaux, aussi bien en France qu'à l'Etranger.

Au cours de ces recherches, j'ai pu obtenir d'utiles documents sur le mode de formation de divers produits du métabolisme cellulaire : graisses, essences, glycogène, etc., ainsi que sur les phénomènes cytologiques consécutifs à la plasmolyse auxquels j'ai consacré une étude détaillée.

Vacuome et son assimilation avec l'appareil de Golgi.

L'observation vitale des cellules végétales m'a fourni l'occasion de faire une étude très précise de l'action des colorants vitaux sur le chondriome et sur le vacuome et d'apporter une importante contribution à la connaissance de ce dernier système mis en évidence par les travaux de M. Dangeard. Mes recherches sur cette question m'ont permis d'établir l'indépendance du vacuome et du chondriome ; elles

m'ont amené en même temps à démontrer que les formations énigmatiques découvertes par Golgi dans les cellules nerveuses et retrouvées depuis dans la plupart des cellules animales, ne sont autre chose que des figures se rapportant aux différentes phases d'un vacuome semblable à celui des cellules végétales et pouvant être obtenu par coloration vitale au rouge neutre. Elles ont établi aussi que les canalicules de Holmgren, décrits également dans les cellules animales, correspondent à l'image négative du vacuome. Ce résultat très important du point de vue de la Cytologie générale, a été confirmé ensuite dans les cellules animales par un grand nombre d'auteurs et spécialement par Parat et Painlevé ainsi que par Corti. Il a été le point de départ d'un nombre considérable de travaux qui se poursuivent actuellement en cytologie animale. Mes recherches sur la cellule végétale qui se prête plus facilement aux observations vitales, ont exercé ainsi une grande influence sur les progrès de la cytologie animale.

Travaux d'ordre taxinomique et descriptions d'espèces nouvelles.

Telles sont les questions sur lesquelles ont porté mes efforts pendant mes trente années de recherches. A la lecture de cet exposé, on voit que mon activité a été surtout orientée du côté de la Biologie végétale et de la Cytologie, mais je n'ai jamais négligé pour cela les études de taxinomie qui ont une place importante dans mes recherches. Par exemple, les résultats de mes recherches sur les Protoascées et sur le *Spermophthora Gossypii* ont apporté une importante contribution à la connaissance de la taxinomie et de la phylogénie des Ascomycètes. De même, mes recherches cytologiques sur les Cyanophycées et les Bactéries ont apporté la preuve que ces deux groupes de Végétaux classés ensemble n'ont que des affinités très lointaines. Enfin, mes travaux sur les Levures du genre *Sporobolomyces* et sur les *Nematospora* ont fourni des renseignements intéressants sur la position taxinomique de ces Champignons.

J'ai en outre eu l'occasion, au cours de mes recherches, de consacrer de nombreuses monographies à des espèces nouvelles de Champignons (Levures de la fermentation du Pulque, Champignons pathogènes, etc., et j'ai écrit une clef dichotomique permettant de déterminer les Levures.

Direction de recherches d'élèves.

Dès le début de ma carrière universitaire, j'ai dirigé des recherches d'élèves. La Faculté des Sciences de Lyon où je suis resté longtemps bénéficie, par le contact de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, si importante par le nombre de ses élèves, de ressources inépuisables, car elle a la facilité de recruter, non seulement des élèves qui lui sont propres, mais encore des étudiants en médecine et en pharmacie, désireux de compléter leurs études par des recherches de science pure, et plusieurs de ces élèves m'ont demandé de les guider dans leurs travaux. Les recherches de plusieurs d'entre eux ont contribué à résoudre d'importants problèmes de Cytologie végétale et deux thèses de doctorat ès Sciences sont sorties de mon laboratoire de Lyon et ont été récompensées par des prix à l'Institut.

A Paris, les conditions étant plus favorables, mon laboratoire a été, dès le début,

un centre actif de recherches, dont plusieurs ont abouti à des thèses de doctorat ès Sciences sur des sujets de Mycologie ou de Cytologie. J'ajoute que plusieurs jeunes savants étrangers, dont quelques-uns étaient déjà professeurs, sont venus faire un stage dans mon laboratoire soit à Lyon, soit à Paris, pour y apprendre les techniques cytologiques ou mycologiques. Je citerai parmi eux : le Professeur Quintanilha, de Coïmbra ; le Professeur Martens, de Louvain ; le Professeur Ruckiewicz, de Lublin ; le Professeur Ozawa, de Kyoto ; M. Conard, chargé de Cours à l'Université de Bruxelles ; le Dr da Fonseca, chef du service mycologique à l'Institut Microbiologique de Rio de Janeiro ; etc.

EXPOSÉ ANALYTIQUE DES TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I. — RECHERCHES SUR LES PROTOASCÉES
(ENDOMYCÉTACÉES, SACCHAROMYCÉTACÉES)
DEVELOPPEMENT, SEXUALITÉ, TAXINOMIE ET PHYLOGÉNIE

A. — CYTOLOGIE DES LEVURES
[**1, 2, 3, 6, 7, 17, 23, 56, 66, 124**

1° *Structure générale.* — Au moment où j'ai abordé ces recherches qui ont fait l'objet de ma thèse de Doctorat ès Sciences, la cytologie des Levures était fort mal connue, et l'on discutait la question de l'existence du noyau. Trois opinions partageaient les auteurs : 1° la première considérait les Levures commo des Champignons de structure primitive dépourvus de noyau véritable, mais renfermant des granulations chromatiques disséminées dans la cellule, constituant un noyau diffus semblable à celui qu'on a décrit dans les Bactéries ; 2° la seconde admettait, au contraire, l'existence dans les Levures d'un noyau typique ; 3° la troisième venait d'être formulée par Wager et avait le mérite de concilier les deux autres théories : elle attribuait aux Levures un noyau constitué par une vacuole remplie de grains de chromatine (grains de chromatine ou noyau diffus des auteurs) et un nucléole toujours accolé à la vacuole et de structure homogène (noyau des auteurs). L'ensemble de cette vacuole remplie de chromatine et de ce nucléole excentrique constituait le noyau des Levures, noyau d'organisation rudimentaire correspondant à un stade primitif de l'évolution phylogénétique du noyau.

La question méritait donc d'être reprise et offrait un grand intérêt au double point de vue de la cytologie générale et de la taxinomie des Levures.

Pour résoudre ce délicat problème, j'ai procédé par comparaison ; j'ai étudié d'abord la structure de Champignons plus favorables que les Levures par leurs

dimensions, tels que diverses Mucédinées dont quelques-unes *(Dematium)* comportaient, dans leur développement, des formes Levures. J'ai ensuite abordé comparativement l'étude des Levures les plus diverses. Enfin, j'ai employé les techniques les plus variées.

Par cette méthode, j'ai pu démontrer que les Levures offrent une structure

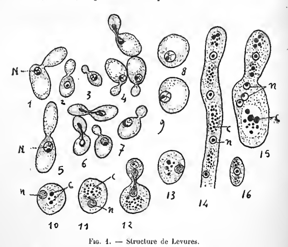


Fig. 1. — Structure de Levures.

1 à 8, *Saccharomyces ellipsoideus*. La coloration ne montre que le noyau (N) et sa division par amitose (4 et 6). — 9-10, *Saccharomyces cerevisiæ*. La coloration ne montre que le noyau. — 11 à 13, *Id.*, noyau (*n*), et corpuscules métachromatiques (c) situés dans la vacuole. — 14, Filament de *Dematium* species. — 15, Forme levure du même Champignon, à plusieurs noyaux. — 16, Forme levure du même Champignon, uninucléée. (*n*) noyau, (c) corpuscules métachromatiques.

absolument semblable à celle des autres Champignons [**2**, **6**, **7**, **17**, **66**]. Les Levures possèdent un noyau bien caractérisé qui, lorsqu'il est convenablement coloré, montre sa structure, constituée par une membrane colorée, un nucléoplasme incolore, un assez gros nucléole et de la chromatine sous forme de grains ou de travées dans le nucléoplasme (fig. **1** : **1** à **9**, N). Ce noyau, qui correspond au nucléole de Wager, se divise toujours par amitose pendant le bourgeonnement (fig. **1** : **4**, **6** et **12**). En dehors de ce noyau, on trouve constamment, dans les cellules des Levures, des vacuoles variant beaucoup de nombre et de dimensions selon le stade du développement. Ces vacuoles, qui n'offrent aucune relation topographique avec le noyau, renferment un grand nombre de granulations fortement colorables (grains de chromatine des auteurs) qui n'ont pas les caractères microchimiques de la chromatine (fig. **1** : **10** à **13**, c). J'ai pu les

identifier aux granulations très répandues, dans les Bactéries et décrites par Babès sous le nom do *corpuscules métachromatiques*, nom que j'ai conservé.

La structure que j'ai mise en évidence dans les Levures correspond exactement à celle que l'on observe dans les autres Champignons chez lesquels la présence du noyau est depuis longtemps bien établie. Je l'ai comparée à celle de diverses Mucédinées (*Dematium* et *Oidium lactis*) [**1**]; dans ces Champignons les articles offrent des noyaux, de mêmes dimensions et de même aspect que celui des Levures, et des vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques (fig. 1 : 14 à 16); la seule différence est qu'il y a toujours plusieurs noyaux par article, tandis que, dans les Levures, on ne constate qu'un seul noyau par cellule. Les oïdies de l'*Oidium lactis*, qui ressemblent beaucoup aux Levures de *Schizosaccharomyces*, sont toujours plurinucléées [**1**]. Au contraire, les formes Levures de *Dematium* offrent en général un unique noyau, sauf dans quelques cas ; la structure des Levures des Ustilaginées ne diffère pas de celle des véritables Levures : on y trouve un seul noyau.

La structure des Levures montre de grandes modifications, au cours du développement, qui se manifestent par des variations de chromaticité du noyau et surtout par des phases à petites et nombreuses vacuoles, suivies d'autres à une seule grosse vacuole provenant de la fusion des petites. Dans la période la plus active de la fermentation, la cellule se remplit de glycogène : celui-ci occupe presque tout son volume, présentant l'aspect d'une énorme vacuole distincte des autres vacuoles et refoulant à la périphérie le noyau et le cytoplasme. La cellule est ainsi transformée en sorte de glande à glycogène.

On constate presque toujours, dans le cytoplasme, la présence de granulations sidérophiles, de formes irrégulières et confuses, que je n'avais pas observées dans mes premières recherches, et qui ont été mises en évidence depuis par Kohl et Pénau. Ces formations ont fait l'objet ensuite d'une étude de ma part [**56**, **66**]. Je les ai désignées sous le nom de *grains basophiles*. Ces granulations, qui ne se colorent pas sur le vivant et ne se différencient guère que par la méthode de Heindehain, paraissent correspondre à des mitochondries altérées par les fixateurs.

2° *Phénomènes cytologiques de la sporulation* [**3**, **4**, **6**, **7**, **17**, **124**]. — La sporulation a fait l'objet de ma part d'une étude détaillée : elle présente partout les mêmes caractères que je puis résumer, en prenant comme exemple le *Saccharomycodes Ludwigii* où l'asque forme quatre ascospores. Dans les cellules qui se préparent à sporuler, on constate une vacuolisation du cytoplasme qui prend un aspect alvéolaire. Le noyau, situé sur le côté de la cellule, est entouré d'une zone de cytoplasme dense et très chromophile (fig. 2 : 1 à 6). Sa division est impossible à observer; on constate seulement la présence, dans le cytoplasme qui entourait le noyau, de deux petits noyaux issus de la première division ; puis ceux-ci émigrent aux deux pôles de la cellule, entraînant avec eux une partie du cytoplasme qui les entoure, et y subissent une deuxième division. Bien qu'il ne soit pas possible de suivre les processus de ces divisions, certaines raisons me font penser qu'elles s'effectuent par mitose. Les quatre

petits noyaux résultant de la seconde division restent disposés par paires aux deux pôles de la cellule. Ils s'entourent chacun d'une petite zone de cytoplasme très dense qui, bientôt, se délimite par une paroi, et ainsi se constituent quatre ascospores, d'abord très petites, qui, peu à peu, grossissent en absorbant l'épiplasme, et finissent par occuper tout le volume de l'asque. Parvenues à l'état de maturité, ces ascospores montrent de petites vacuoles et un noyau situé sur le côté.

Les phénomènes cytologiques de la sporulation sont très comparables à ceux qui se produisent dans les Ascomycètes supérieurs.

J'ai pu suivre plus tard [**124**] la division nucléaire dans l'asque du *Schizosaccha-*

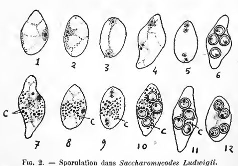


Fig. 2. — Sporulation dans *Saccharomycodes Ludwigii.*

1 à 6, *Division nucléaire et formation des ascospores dans une préparation ou les noyaux sont seuls colorés.* — 1, Cellule se préparant à la sporulation. — 2 et 3, Stade suivant la première division et émigration des deux noyaux-fils, ainsi que du cytoplasme qui les entoure, aux deux pôles. — 4, Stade suivant la seconde division. — 5, Délimitation des ascospores. — 6, Asque parvenu à maturité. — 7 à 12, *Mêmes stades dans une préparation ou les corpuscules métachromatiques* (c) *ont été colorés.* — On constate que ces corps, très nombreux dans l'épiplasme, sont absorbés par les ascospores (10 à 12).

romyces octosporus ; celle-ci est incontestablement une mitose semblable à celle que l'on connaît dans les Ascomycètes supérieurs (mésomitose) (fig. 3).

La plupart de mes résultats ont été vérifiés [**56**] par les recherches de Marpman, Feinberg, Henneberg, et surtout de Kohl et de Pénau. Enfin, à l'époque où j'ai publié ma thèse de Doctorat ès Sciences, et où j'exposais ces résultats, MM. Matruchot et Molliard observaient, dans une petite Algue, le *Stichococcus bacillaris*, une structure semblable à celle des Levures, avec un noyau de même forme et des vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques. Les résultats de mes recherches sur cette question sont aujourd'hui admis sans contestation par tous les Botanistes.

3° *Caractères histochimiques, évolution et rôle des corpuscules métachromatiques* [**2, 3, 6, 7, 56, 66**]. — J'ai consacré une importante partie de mes recherches à l'étude des caractères histochimiques et de l'évolution des corpuscules métachromatiques.

Ces éléments, toujours localisés dans les vacuoles, sont parfois visibles sur le vivant, sous forme de petits grains assez réfringents et animés de mouvements browniens. Ils ont le pouvoir de fixer la plupart des colorants vitaux (bleus de méthylène et de Nil, rouge neutre), qui les font apparaître à l'état de granulations, de dimensions très variables, vivement colorées, animées de mouvements browniens ; le suc vacuolaire tout entier prend, en général, une teinte diffuse, ce qui semble montrer qu'ils sont aussi à l'état de solution. Après fixation à l'alcool, au formol, par des mélanges alcooliques de sublimé et d'acide acétique, ou par la flamme, ils montrent une vive affinité pour les teintures basiques bleues et violettes d'aniline, ainsi que pour l'hématéine, qui leur donnent une coloration métachromatique rougeâtre. Les fixateurs renfermant de l'acide picrique, et surtout les liquides chromo-osmiques, diminuent cette électivité pour les colorants. Les corpuscules métachromatiques ne se colorent pas électivement par l'hématoxyline ferrique.

Fig. 3. — Mitoses dans l'asque de *Schizosaccharomyces octosporus*.

a, Noyau à l'état de repos. — *b*, Plaque équatoriale : le fuseau achromatique est situé dans l'intérieur du noyau et limité aux deux pôles par un centrosome. — c, Anaphase. — *d*, Télophase : la membrane nucléaire est résorbée et le fuseau s'étire : les chromosomes sont réunis aux deux pôles en une masse chromatique homogène. — e, Les deux noyaux-fils sont constitués, mais le nucléole du noyau-père subsiste entre eux dans le cytoplasme. — *f* et *g*, Télophases de la seconde mitose. — *h*, Télophases de la troisième mitose.

Ces corpuscules paraissent exister dans tous les Champignons et aussi dans les Algues où ils ont été décrits par Bütschli, sous le nom de *grains rouges*.

Au cours de la sporulation, ils deviennent très nombreux et s'accumulent dans l'épiplasme avec du glycogène et des globules graisseux ; ils sont peu à peu absorbés par les ascospores, après avoir subi une sorte de pulvérisation et de dissolution (fig. 2 : 7 à 12). Ces corpuscules offrent la même évolution que le glycogène et les globules graisseux et, par conséquent, paraissent jouer le rôle de produits de réserve.

Mes recherches sur les corpuscules métachromatiques sont résumées, dès 1901, dans des Notes préliminaires, puis développées dans ma thèse (1902). Elles ont fait connaître, pour la première fois, les caractères microchimiques, l'évolution et le rôle de ces corps qui, en raison de leur fréquence et de leur abondance, paraissent jouer un rôle important dans la vie des Champignons. Ces résultats ont été confirmés ensuite par les recherches de M. Arthur Meyer (1904), puis par un grand nombre d'auteurs. Ils paraissent aujourd'hui bien établis.

B. — SEXUALITÉ DES LEVURES

[**3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 22, 23, 27, 68, 69, 70, 71, 114, 125, 145, 162, 166, 167**]

Bien que l'existence d'une sexualité dans les Levures ait été soupçonnée par Schiönning et Hoffmeister, il est incontestable que c'est dans ma Note du **22** juillet **1901**, que cette sexualité a été démontrée pour la première fois, et que c'est à peu près exclusivement aux recherches que j'ai poursuivies pendant vingt ans sur cette question que l'on doit l'ensemble de nos connaissances sur la sexualité des Levures.

Janssens et Leblanc avaient décrit, dans les cellules qui se préparent à sporuler, une division préalable du noyau, bientôt suivie de fusion des deux noyaux-fils, et ils assimilaient ce phénomène à la karyogamie décrite par Dangeard dans les Exoascées, et lui attribuaient la valeur d'un acte sexuel. Mes observations [**3, 6, 7, 17**] ne m'ont pas permis de vérifier ce fait et ont démontré l'absence de karyogamie dans les Levures.

1° *Copulation à l'origine de l'asque. Isogamie* [**4, 5, 6, 7, 27**]. — Par contre, mes recherches ont démontré, dès 1901 (22 juillet [**4**]), l'existence d'une copulation isogamique au moment de la sporulation dans un groupe spécial de Levures, les *Schizosaccharomyces*, qui se distinguent des autres par leur mode de multiplication s'effectuant par cloisonnement transversal et non par bourgeonnement. Schiönning avait déjà constaté que, dans une des espèces de ce groupe, le *Sch. octosporus*, les asques dérivent de la fusion de deux cellules, mais il n'avait donné aucune interprétation de ce phénomène. Une courte observation d'Hoffmeister était favorable à l'idée d'un acte sexuel.

J'ai repris l'étude [**4, 5, 6, 7, 27**] de cette Levure en suivant son développement à partir de l'ascospore jusqu'à la formation des asques, la cultivant en chambre humide, sur moût de bière gélosé. Des ascospores ensemencées dans ce milieu ne tardent pas à germer et produisent des cellules végétatives (fig. 4 : A, *a*, *b*, *c*) qui se multiplient très activement pendant les deux premiers jours, puis vers le troisième jour, la multiplication se ralentit : les cellules sont alors réunies les unes aux autres en petites colonies (fig. 4 : A, *d*). C'est à ce moment que commence la copulation. Deux cellules identiques et souvent contiguës d'une même colonie se réunissent l'une à l'autre au moyen d'un canal de copulation formé par la soudure de deux petits becs émis par chacune d'elles (fig. 4 : A, *d* et B). La cloison mitoyenne qui sépare les deux cellules au milieu de ce canal ne tarde pas à se résorber ; puis les cellules achèvent généralement leur fusion et ne forment bientôt plus qu'une grosse cellule ovale qui se transforme en asque à 4 ou 8 ascospores. Parfois la fusion des gamètes n'est pas complète et l'asque conserve un léger rétrécissement médian qui indique leur point d'union.

L'étude de ces phénomènes sur frottis fixés et colorés m'a permis de constater, avec la plus grande précision, la fusion nucléaire qui accompagne la fusion des gamètes et de démontrer qu'il s'agit bien d'un phénomène sexuel (fig. 4 : C).

Une particularité très curieuse, qu'il est nécessaire de faire remarquer en raison de son importance biologique, est le fait que la copulation s'effectue généralement

entre les quelques cellules d'une même colonie, par conséquent entre des cellules très proches parentes et quelquefois provenant de la division d'une même cellule, c'est-à-dire entre gamètes frères.

Cependant, il n'en est pas toujours ainsi. En effet, après de longues cultures au

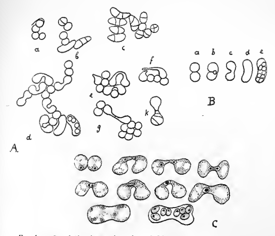


Fig. 4. — Copulation isogamique dans *Schizosaccharomyces octosporus*.

A, Développement de la levure sur chambre humide : *a*, ascospores gonflée et sortant de l'asque ; *b* et *c*, colonies issues de la germination de ces ascospores ; *d*, même colonie plus âgée dans laquelle s'effectue la copulation ; *e*, *f*, *g*, copulation dans une race tendant à devenir asporogène ; *k*, essai infructueux de copulation, suivi de cloisonnement. — B, Stades successifs de la copulation et de la sporulation. — C, Stades successifs de la copulation et de la sporulation sur une préparation colorée ; on y peut constater la fusion nucléaire.

laboratoire, la Levure montre une tendance à perdre sa faculté de sporuler et arrive même à devenir asporogène, après un temps plus ou moins long de culture. Dans les races en voie de subir cette transformation, le nombre des cellules asporogènes augmente donc aux dépens des cellules sporogènes qui deviennent de moins en moins nombreuses. Ces dernières se trouvant isolées dans une colonie, au milieu de cellules ayant perdu la fonction sporogène, devront alors, pour réaliser leur union, chercher à s'anastomoser à des cellules sporogènes de colonies situées à leur voisinage. A cet effet, elles poussent de longs tubes qui vont à la recherche les uns des autres et au moyen desquels s'effectue la copulation entre deux cellules éloignées (fig. 4 : *e*, *f*, *g*). Souvent elles échouent dans leurs tentatives d'union : en ce cas, le tube qu'elles ont formé se cloisonne en petites cellules qui se dissocient (fig. 4 : *k*).

Quoi qu'il en soit, la copulation s'effectue normalement entre des cellules très proches parentes de la même colonie et ce fait est en désaccord avec les théories généralement admises. On sait qu'on admet que la fécondation s'effectue de préférence entre deux éléments de parenté très éloignée et l'on explique son utilité par l'avantage que présente le mélange de cellules possédant des caractères héréditaires dissemblables. A l'époque où j'ai fait connaître ces résultats, des phénomènes de cet ordre

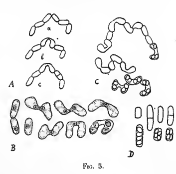


Fig. 5.

A, Stades successifs de la copulation dans *Schizosaccharomyces Pombe*, en chambre humide. — B, *Id.*, sur une préparation fixée et colorée. — C, Copulation et formation de l'asque dans *Schizosaccharomyces mellacei*. — D, Cellules végétatives et asques dans la forme parthénogénétique de *Schizosaccharomyces mellacei*.

n'avaient été signalés que très rarement. La copulation que j'ai décrite dans le *Sch. octosporus* a été l'un des premiers exemples de ces phénomènes que les Allemands ont désigné sous le nom d'autogamie. Depuis, l'autogamie a été fréquemment observée dans divers Protistes (Champignons, Protozoaires, Algues, etc.).

J'ai démontré, en outre [**4**. **5**, **6**, **7**, **11**, **17**, **27**], l'existence d'une copulation semblable dans les deux autres représentants, connus à ce moment, du genre *Schizosaccharomyces*, *Sch. Pombe* et le *Sch. mellacei*, où l'existence de ces phénomènes était insoupçonnée. Dans ces dernières Levures, la fusion des gamètes est en général incomplète et l'asque conserve la forme de deux renflements unis par un col étroit. La fusion nucléaire s'opère dans le canal de copulation, puis le noyau qui en résulte ne tarde pas à se diviser : les deux noyaux-fils émigrent ensuite dans les deux renflements et y subissent une seconde division. Les ascospores, au nombre de quatre, se forment par deux dans chacun des renflements de l'asque (fig. 5 : A, B et C).

La parthénogénèse, fort rare dans le *Sch. octosporus*, est au contraire fréquente dans ces deux Levures [**11**] Enfin, dans une variété de *Sch. mellacei* [**11**], provenant du laboratoire de Beyerinck, j'ai constaté que la parthénogénèse était devenue géné-

rale. Les asques se produisaient dans des cellules ordinaires, sans copulation préalable[1] (fig. 5 : D).

Exactement à la même époque où je décrivais ces exemples de copulation, Barker (8 juillet 1901), démontrait l'existence de phénomènes semblables dans une nouvelle espèce bourgeonnante, isolée d'une fermentation de Gingembre et qui a reçu le nom de *Zygosaccharomyces Barkeri*. La copulation s'effectue exactement comme dans les Levures précédentes et aboutit à la formation d'asques constitués par deux renflements unis par un col étroit. Les ascospores, au nombre de deux à quatre, naissent dans les deux renflements. Bien qu'hésitant à interpréter ces phénomènes, Barker incline à leur donner une valeur sexuelle. L'étude cytologique de cette Levure [**27**] m'a permis ensuite de démontrer l'existence d'une fusion nucléaire. Il s'agit donc bien d'une copulation.

Cette sexualité rencontrée chez quelques Levures ne me parut pas être une exception et l'examen des dessins représentés par certains auteurs me faisait présager l'existence de phénomènes semblables dans d'autres Levures. C'est ainsi que j'avais émis l'opinion [**52**], d'après les figures représentées par Lindner, que *Pichia farinosa* et *S. Ballii* devaient avoir une sexualité. J'avais aussi attribué une copulation à deux espèces isolées par Saïto de la fermentation du Soya, la *Soja-Kahmehfe* et le *Sacch. Soja*. Ces présomptions étaient exactes et effectivement Saïto annonça bientôt que les asques de la *Soja-Kahmhefe* dérivent d'une copulation et donna à cette Levure le nom de *Zygosaccharomyces japonicus* : mais il ne fournit aucune description du phénomène. Klöcker isola ensuite du corps des Abeilles, le *Zyg. Priorianus*, puis plus tard trouva, dans des échantillons de terre de Java, une Levure pour laquelle il créa le genre *Debaryomyces*. A propos de cette espèce qu'il nomme *D. globosus*, Klöcker s'exprime ainsi : « Dans la plupart des cas, les spores se rencontrent dans les cellules reliées entre elles par un canal étroit. Il est probable que dans ces cas une fusion entre deux cellules s'est produite ».

Je me suis attaché à observer la copulation de ces diverses Levures [**63**, **68**, **69**, **89**]. Mes observations sur le *Zyg. japonicus* montrent que dans cette Levure, la copulation s'opère par isogamie, exactement comme dans *Zyg. Barkeri*. Dans le *Zyg. Priorianus*, il résulte de mes recherches que la copulation, généralement isogamique, peut accidentellement s'effectuer entre deux cellules de dimensions très inégales, entre une grosse cellule-mère et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement ; en ce cas, les ascospores se forment toujours dans la grande cellule.

Il résulte, en outre, de mes observations sur *Deb. globosus* que, dans cette espèce, les mêmes particularités se retrouvent d'une manière plus accentuée. J'ai constaté qu'environ 25 pour 100 des asques dérivent de la copulation de cellules de mêmes

[1] Depuis l'époque de mes recherches, le nombre des espèces du genre *Schizosaccharomyces* s'est accru. Nakazawa (1914) a décrit plusieurs nouvelles espèces *(Sch. Sautawensis, Sch. Formosensis* et *Sch. Nokkoensis)* : les deux premières offrent une copulation isogamique semblable à celle de *Sch. Pombe* et de *Sch. mellacei* ; mais le *Sch. Nokkoensis* a perdu cette sexualité, et, chez lui, les asques se développent parthénogénétiquement.

dimensions (fig. 6 : A, *b* et B, 1 à 4) ; l'asque renferme le plus souvent une seule ascospore qui naît dans l'une des cellules, mais il peut former aussi deux ascospores qui apparaissent chacune dans l'un des renflements. Tous les autres asques se forment par copulation entre une grosse cellule-mère et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement (fig. 6 : A, *a* et B, 5 à 9) ; dans ce dernier cas, l'observation cytologique

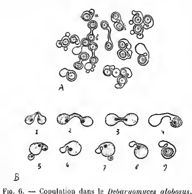


Fig. 6. — Copulation dans le *Debaryomyces globosus.*

A, Asques développés en chambre humide. Les uns dérivent de la fusion de deux cellules égales (*b*), et tantôt ils renferment deux ascospores, situées chacune dans l'un des renflements, tantôt ils ne possèdent qu'une seule ascospore. D'autres asques (*a*) résultent de la fusion d'une grosse cellule avec l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement; ils n'ont alors qu'une seule ascospore. — B, Stades successifs de la copulation entre deux cellules égales et de la sporulation, sur une préparation colorée ; 5, Stades successifs de la copulation entre une cellule-mère et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement.

démontre que le contenu de la petite cellule passe dans la grosse où s'effectue la fusion nucléaire. L'asque ne donne alors qu'une seule ascospore, exceptionnellement deux qui se forment toujours dans la grosse cellule.

Comme la parthénogénèse est très fréquente dans cette Levure, j'avais d'abord pensé qu'il s'agissait, dans ces fusions entre cellules inégales, d'une sorte de régression de la sexualité [**69**]. Mes travaux ultérieurs ont montré au contraire qu'il faut les considérer comme des copulations hétérogamiques et que *D. globosus* est certainement une forme s'acheminant vers l'hétérogamie, laquelle devient la règle dans les autres espèces du même genre.

2° *Hétérogamie* [**69, 71, 89, 110, 114, 141, 145, 162, 166, 167**]. — Dans toutes les Levures dans lesquelles j'avais observé des phénomènes sexuels à l'origine de l'asque dans mes premières recherches, la copulation se réduisait à l'isogamie. Cependant, dans le *Zyg. Priorianus* et dans le *Deb. globosus*, j'avais constaté parfois une

tendance à l'hétérogamie. J'ai mis en évidence pour la première fois une hétérogamie bien caractérisée dans une Levure rapportée d'Afrique occidentale par la mission Chevalier et à laquelle j'ai donné le nom de *Zyg. Chevalieri* [**71, 89, 110**]. Ici les deux gamètes sont représentés par des cellules qui n'ont pas le même degré de développement et présentent par conséquent des dimensions sensiblement différentes (fig. 7). Le gamète mâle ou microgamète est une cellule très jeune, généralement un bourgeon venant de

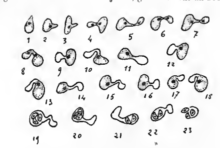


Fig. 7. — Stades successifs de la copulation hétérogamique dans *Zygosaccharomyces Chevalieri*.

1 à 3, Gamètes formant de petits becs en vue de s'unir a d'autres gamètes — 4 à 7, Les deux gamètes sont anastomosés. — 8, La cloison séparatrice des deux gamètes au milieu du canal de copulation s'est résorbée, et les deux noyaux se rapprochent. — 9 à 18, Le contenu du gamète mâle s'est introduit dans le gamète femelle et la fusion nucléaire est operée. — 19 à 22, Asques définitivement formés. — 23, Déhiscence de l'asque.

se détacher d'une cellule-mère ; il est donc de très petite taille. Au contraire, le gamète femelle ou macrogamète est une cellule adulte. Les deux gamètes se soudent au moyen d'un canal de copulation ; puis, tout le contenu du gamète mâle émigre dans le gamète femelle qui se transforme en asque renfermant de 2 à 4 ascospores. Quelques formes de transition entre l'isogamie et l'hétérogamie s'observent, dans lesquelles la différence de dimensions entre les deux gamètes est faible.

Dans des recherches, publiées très peu de temps après les miennes, Nadson et Konokotine, ont décrit à leur tour dans *Nadsonia* (*Guilliermondia*) *fulvescens* isolée du suintement muqueux d'un Chêne, une copulation hétérogamique semblable à celle que j'ai décrite dans *Zyg. Chevalieri*.

Mes recherches ultérieures ont montré que l'hétérogamie est très répandue chez les Levures. J'ai eu l'occasion, dans ces dix dernières années, d'observer un grand nombre de cas de copulations hétérogamiques dans des espèces nouvelles : dans une Levure isolée d'un sirop d'écorce d'oranges amères, le *Zyg. Nadsonii* [**114, 139**], ainsi que dans les *Debaryomyces Nadsonii* et *Deb. Klöckerii* [**114, 145, 166, 176**], isolés de malades par le Dr Péju, et enfin [**162**] dans 13 espèces appartenant au genre *Debaryomyces* et isolées par M. Césari de saucissons et de viandes salées. Il est remarquable

que, dans toutes ces Levures, la copulation s'effectue en général entre une cellule-mère et l'une des cellules-filles issues de son bourgeonnement et encore attachées à elle, par conséquent entre gamètes étroitement apparentés. Elle est donc, comme dans les cas précédents, autogamique (fig. 8). Cependant on constate aussi des copulations entre de grosses et de petites cellules qui, manifestement, ne dérivent pas les unes des autres

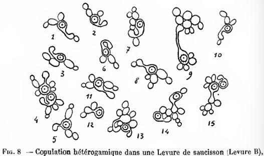


Fig. 8 — Copulation hétérogamique dans une Levure de saucisson (Levure B), en chambre humide.

On y voit que la copulation s'effectue en général entre cellules appartenant à une même colonie, formée par un certain nombre de cellules issues du bourgeonnement d'une même cellule-mère. Dans la figure 9 cependant, elle s'effectue entre cellules de deux colonies différentes.

(fig. 8 : 9, **13** et 15). Les gamètes paraissent suivre, en général, la loi du moindre effort et s'unir toujours avec le gamète le plus voisin ; mais il peut se faire que cette union ne soit pas possible pour des raisons que nous ignorons : ce qui explique les exceptions à la règle, parfois assez nombreuses. Les lois de différenciation sexuelle échappent à notre analyse.

J'ai fait connaître un autre exemple d'hétérogamie plus intéressant dans une espèce nouvelle, que j'ai isolée : le *Zyg. Pastori* [**141**, **167**] (voir p. 40). Ici au moment de la sporulation, les cellules offrent des dimensions très inégales : il y a de grosses cellules rondes, les plus anciennes, et de très petites cellules cylindriques plus récemment formées qui n'ont pu subir un développement complet par suite des mauvaises conditions d'alimentation. Presque toutes les cellules émettent de longs tubes au moyen desquels elles cherchent à s'anastomoser, mais l'union se fait avec la plus grande difficulté et la plupart des cellules forment plusieurs tubes dirigés en sens divers (fig. 9). Dans un certain nombre de cas, les cellules, souvent après plusieurs tentatives infructueuses, réussissent à s'unir : en ce cas, le contenu de la petite cellule passe dans la grosse où se forment les ascospores. Beaucoup d'autres cellules ne parviennent pas à s'anastomoser et se transforment en asques parthénogénétiques. Enfin la majorité des cellules renoncent à sporuler. En isolant les colonies d'une plaque de gélatine, j'ai pu obtenir

des races asporogènes dans lesquelles les cellules cherchent à s'unir, sans y parvenir, au moyen de longs tubes et ne produisent pas d'ascospores. Le *Zyg. Pastori* offre donc un exemple de Levure dans laquelle l'affinité sexuelle tend à s'affaiblir et où la fonction sporogène est en voie de s'éteindre.

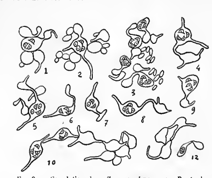


FIG. 9. — Copulation dans *Zygosaccharomyces Pastori*.

1 à 9. Quelques asques dérivés de copulation hétérogamique. On voit que les cellules qui se sont fusionnées ont souvent un ou plusieurs éperons, indices d'essais infructueux de copulation. — Dans 4, la copulation est presque isogamique. — 10 à 12, Essais infructueux de copulation et asques parthenogénétiques.

3° *Régression de la sexualité* [**68**, **70**, **89**]. — Le *Zyg. Pastori* peut servir de transition entre les espèces précédentes et d'autres Levures dans lesquelles mes recherches ont établi que, bien que la sexualité ait disparu, il subsiste encore des vestiges d'attraction sexuelle. C'est le cas d'une espèce très curieuse, le *Schwanniomyces occidentalis* (Klöcker), dans laquelle j'ai montré [**68**], qu'avant de sporuler, les cellules émettent chacune une sorte de diverticule plus ou moins allongé : ces cellules essaient de se réunir deux à deux, sans jamais y parvenir (fig. **10** : B).

Peu de temps après cette observation, Ludwig Rose et Dombrowski ont retrouvé des processus semblables dans d'autres Levures, mais sans les décrire suffisamment. Dans l'une d'elles, que j'ai pu étudier grâce à la complaisance de M. Ludwig Rose et que j'ai désignée sous le nom de *Torulaspora Rosei*, j'ai soigneusement étudié ce phénomène [**70**, **89**]. J'ai constaté que toutes les cellules se préparant à sporuler émettent des diverticules qui cherchent à s'anastomoser deux à deux (fig. **10** : A). Le plus souvent, elles ne parviennent pas à se rejoindre, soit que leurs diverticules se dirigent en sens inverse, soit que les diverticules arrivés au contact de l'un et de l'autre continuent à s'allonger en s'entrecroisant. Cependant, dans un assez grand nombre de cas, les cellules réussissent à s'accoler, mais la cloison qui les sépare ne se résorbe pas, en sorte que les deux cellules anastomosées se transforment chacune en asque sans s'être fusionnées.

Il arrive souvent qu'une même cellule peut donner plusieurs diverticules sur différents points de sa surface, qui se dirigent en tous sens et parfois peuvent se ramifier. On obtient ainsi des formes très spéciales déjà décrites dans certaines Levures, et dont la signification restait énigmatique. On assiste donc, avec ces Levures, à une régression de la sexualité [1], et l'on s'explique facilement que la majorité des Levures ait perdu

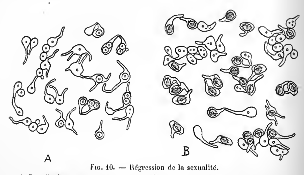


Fig. 10. — Régression de la sexualité.

A, Formation des asques dans *Torulaspora Rosei* : les asques se forment dans des cellules pourvues de longs diverticules, témoins des essais infructueux qu'elles ont faites en vue de s'unir. — B, *Id.*, dans *Schwanniomyces occidentalis*.

toutes traces de sexualité. On peut considérer celles-ci comme dérivées de Levures primitivement sexuées, et donner à leur asque la valeur d'un œuf parthénogénétique.

4° *Copulation des ascospores* [**5, 6, 7, 9, 10, 22, 23, 27, 52, 110, 125**]. — Mes recherches ont permis de mettre en évidence une autre forme de sexualité chez les Levures. Dans ses recherches sur la germination des ascospores des Levures, Hansen avait montré que les ascospores de *Saccacharomycodes Ludwigii* germent par un mode spécial : au lieu de se gonfler simplement et de bourgeonner, elles se fusionnent le plus souvent deux à deux par un canal, et c'est au milieu de ce canal que s'effectue le bourgeonnement. Dans les germinations d'ascospores très âgées, cette fusion devient rare : les ascospores germent d'ordinaire isolément, en formant de longs tubes de germination qui, par cloisonnement, se séparent ensuite en cellules végétatives et que Hansen compare au promycélium des Ustilaginées. L'auteur n'avait pas donné d'interprétation à cette fusion des ascospores.

[1] Plus récemment, Saïto a pu isoler, dans *Zyg. Mandshuricus*, des races parthénogénétiques qui n'offrent plus que des vestiges de sexualité. D'autre part, Charaboski a isolé une Levure asporogène pour laquelle il a créé le genre *Asporomyces*, dont les cellules, à certaines phases du développement, essaient de se conjuguer au moyen de diverticules, sans jamais y parvenir ; cette Levure a donc perdu sa faculté de sporuler, mais conserve des vestiges d'attraction sexuelle.

J'avais essayé, dans mes premières recherches [**5**, **6**, **7**], de reprendre l'étude de ces fusions afin de savoir si elles ont un caractère sexuel, mais la variété de *S. Ludwigii* que je possédais et qui provenait du laboratoire Kral (Prague) ne présentait aucune fusion d'ascospores. M. Hansen ayant eu l'obligeance ensuite de m'envoyer une de ses cultures de *S. Ludwigii*, j'ai pu retrouver les fusions d'ascospores [**9**, **10**, **22**, **27**].

Les ascospores, ordinairement au nombre de quatre par asque, restent le plus souvent enveloppées par la paroi de l'asque jusqu'au début de la germination. Elles se gonflent, puis se fusionnent deux à deux dans l'intérieur de l'asque au moyen d'un canal de copulation (fig. 11) ; ce dernier donne ensuite naissance vers son milieu, par bourgeonnements successifs, à une série de cellules végétatives qui se détachent à

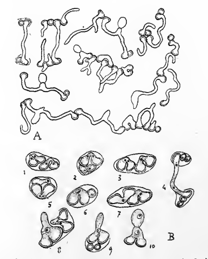


Fig. 11. — Copulation des ascospores dans *Saccacharomycodes Ludwigii.*

A, Germination d'ascospores âgées : la copulation s'effectue le plus souvent entre ascospores appartenant à des asques différents ; beaucoup d'ascospores ne parviennent pas à réaliser leur union. — B, Germination d'ascospores jeunes sur une préparation colorée : la copulation s'opère à l'intérieur de l'asque ; 1 à 7, Stades successifs de la fusion des ascospores et de la fusion nucléaire qui l'accompagne ; 8 à 10, Bourgeonnement issu de l'œuf ; dans 4, on a représenté la copulation de deux ascospores appartenant à des asques différents.

mesure qu'elles se forment. L'étude cytologique de ces fusions m'a permis de démontrer qu'elles sont toujours accompagnées d'une fusion nucléaire se produisant dans le canal de copulation ; elles offrent donc la signification d'un acte sexuel (fig. 11 : B). La fusion

s'effectuant en général entre les ascospores d'un même asque présente donc ici encore le caractère d'un phénomène autogamique (fig. **11** : B, 1 à 9). Elle se produit même le plus souvent entre deux ascospores sœurs ; il est facile de s'en assurer, car les deux ascospores provenant d'une même division nucléaire restent généralement accolées l'une à l'autre, ce qui permet de les distinguer. Toutefois, il n'en est pas toujours ainsi, car, dans la germination d'ascospores âgées, les fusions deviennent beaucoup plus rares, soit que les ascospores affaiblies ne germent pas aussi facilement les unes que les autres, soit que certaines d'entre elles aient perdu la faculté de germer. En ce cas, les ascospores, forment de longs tubes qui essaient de se rejoindre sans toujours y réussir (fig. **11** : B, 4 et A). Ces tubes déchirent la paroi de l'asque, puis, lorsqu'ils ne parviennent pas à s'unir, ils se cloisonnent et se dissocient en plusieurs cellules végétatives (fig. **11** : A). Lorsqu'ils réussissent à s'unir, la fusion peut s'accomplir entre des ascospores provenant d'asques différents. Ces tubes germinatifs, que Hansen rapprochait du promycélium des Ustilaginées, ne représentent donc, d'après mes recherches, que des tentatives souvent infructueuses faites par les ascospores en vue de se fusionner. Ce sont des phénomènes de même ordre que ceux que l'on constate dans les races du *Sch. octosporus* en voie de perdre leur faculté de sporuler.

Même dans les germinations d'ascospores jeunes, on constate toujours qu'un petit nombre d'ascospores germent isolément sans se fusionner. On comprend donc facilement que certaines variétés de cette Levure soient susceptibles de perdre complètement leur pouvoir de se fusionner, comme la variété provenant du laboratoire Kral.

J'ai étudié en même temps [**22**, **27**] la germination des ascospores d'un certain nombre de Levures : *S. Pastorianus*, *S. cerevisiæ*, Levure de Johannisberg II, et *Willia Saturnus*. Dans les deux premières, je n'ai jamais constaté de fusions d'ascospores. Par contre, j'ai retrouvé des fusions d'ascospores dans la Levure de Johannisberg II et dans *Willia Saturnus*, où elles avaient été d'ailleurs signalées par Hansen et Klöcker. Celles-ci s'effectuent de la même manière que dans le *S. Ludwigii*, avec cette différence que les ascospores ne se fusionnent généralement qu'après rupture de la paroi de l'asque. J'ai pu démontrer qu'elles sont toujours accompagnées d'une fusion nucléaire.

Mes recherches établissent donc l'existence, dans certaines Levures, d'un phénomène sexuel qui, au lieu de se produire comme dans les autres espèces à l'origine de l'asque, s'opère seulement à un stade ultérieur entre les ascospores elles-mêmes. Etant donné ce que l'on sait de la sexualité des autres Ascomycètes, on est obligé d'admettre que la sexualité primitive des Levures se trouve placée à l'origine de l'asque et que la fusion des ascospores représente seulement une sorte de phénomène compensateur de la sexualité ancestrale perdue [**52**, **62**] (parthénogamie des Allemands). Ce retard dans la sexualité a pour conséquence d'augmenter considérablement la phase sporophyte très raccourcie dans les autres Levures où, la sexualité se produisant à l'origine de l'asque, l'œuf doit être immédiatement le siège d'une réduction chromatique s'opérant pendant ses divisions nucléaires. Dans les Levures où la sexualité se trouve reportée à la germination des ascospores, les cellules végétatives issues du bourgeonnement de celles-ci constituent le sporophyte, le gamétophyte se trouvant

réduit aux ascospores. Cette copulation des ascospores paraît se rencontrer fréquemment dans les Levures : je l'ai retrouvée dans plusieurs espèces nouvelles rapportées par la mission Chevalier (*S. Chevalieri*, *Mangini* et *Lindneri*) [**110**] (voir p. 38), ainsi que dans une Levure de la fermentation du Pulque [**125**] (voir p. 39). Elle a été trouvée également par l'un de mes élèves, M. H. Marchand, dans les *S. ellipsoideus*, *intermedius*, *validus*, *vini Muntztii*, *Willianus*, *turbidans*, *Bayanus* et dans la Levure de Johannisberg I. Enfin, M. Nadson a décrit récemment une copulation semblable dans une espèce nouvelle, le *S. paradoxus*.

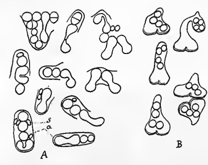


Fig. 12. — Transformation directe de l'ascospore en asque.

A, Germination des ascospores de *Schizosaccharomyces*, dans des conditions d'alimentation défectueuse. Les ascospores se gonflant, ne subissent qu'un très petit nombre de cloisonnements, et les cellules qui en résultent se fusionnent pour sporuler de nouveau. Souvent même, les ascospores une fois gonflées se fusionnent immédiatement sans subir de cloisonnement et cette fusion peut s'accomplir avant la rupture de la paroi de l'asque (*a*) : *s*, Ascospores ne s'étant pas encore gonflées. — B, Germination des ascospores de *Saccharomycodes Ludwigii*, dans des conditions défectueuses : les ascospores, après s'être fusionnées, se sont directement transformées en asques.

5° *Raccourcissement du développement : transformation directe de l'ascospore en asque* [**10, 27, 125**]. — Mes recherches m'ont permis de constater pour la première fois une sorte de raccourcissement du développement des Levures qui se produit dans certaines conditions anormales. Lorsqu'on fait germer les ascospores de *S. Ludwigii* sur carotte, milieu défavorable au bourgeonnement, certaines ascospores tardives ne germent que lorsque les autres ont déjà formé de nombreuses générations de cellules végétatives. Ces ascospores germent alors dans des conditions d'alimentation défectueuses et peuvent se transformer directement en asques aussitôt fusionnés. Les asques ainsi formés offrent donc l'apparence des asques d'un *Schizosaccharomyces* ou d'un *Zygosaccharomyces*, et sont constitués par deux renflements unis par un col étroit. D'autres fois, la cellule résultant de la fusion des deux ascospores commence à germer : elle produit un petit tube germinatif dont le développement s'arrête et dans lequel

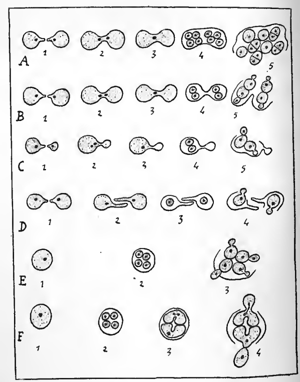


Fig. 13. — Schéma représentant le développement et la sexualité dans les principaux types de la famille des Saccharomycétacées, d'après l'ensemble de mes recherches.

A, *Schizosaccharomyces octosporus* : 1 à 3, copulation isogamique ; 4, zygospore transformée en asque ; 5, germination des ascospores. — B, *Zygosaccharomyces Barkeri* : 1 à 3, copulation isogamique ; 4, zygospore transformée en asque ; 5, germination des ascospores. — C, *Zygosaccharomyces Chevalieri* : 1 à 3, copulation hétérogamique ; 4, asque ; 5, germination des ascospores. — D, Levure ayant perdu sa sexualité, mais dont les cellules sporogènes conservent encore des traces d'attraction sexuelle ; 1 et 2, cellules essayant de s'unir sans y parvenir ; 3, sporulation de ces cellules ; 4, germination des ascospores. — E, *Saccharomyces Cerevisiæ* : 1, cellule sporogène ; 2, asque ; 3, germination des ascospores. — F, *Saccharomycodes Ludwigii* : 1, cellule sporogène ; 2, asque ; 3, copulation des ascospores ; 4, germination.

naissent des ascospores (fig. 12 : B). J'ai retrouvé les mêmes anomalies dans la Levure de Johannisberg II et dans *Willia Saturnus*.

En faisant germer des ascospores de *Sch. octosporus* sur carotte, j'ai constaté que celles-ci se gonflent, ne subissent qu'un très petit nombre de cloisonnements et que les cellules qui en résultent se conjuguent immédiatement et se transforment en asques Il arrive souvent que des ascospores encore enveloppées par la paroi de l'asque peuvent, après s'être gonflées et sans s'être cloisonnées, se fusionner directement pour former un asque. Il en résulte ainsi que les ascospores se fusionnent au début de leur germination comme dans le *S. Ludwigii*, mais au lieu de bourgeonner après cette fusion, ici elles se transforment directement en asques (fig. 12 : A).

A l'époque où je publiais ces résultats chez le *S. Ludwigii* [**10**] et indépendamment de moi, Hansen observait les mêmes phénomènes dans la Levure de Johannisberg II en plaçant sur bloc de plâtre des ascospores imbibées préalablement pendant quelques heures dans un liquide nutritif. Depuis j'ai eu l'occasion de retrouver [**125**] ce phénomène en cultivant sur carotte une Levure de Pulque (voir p. 34).

6° *Idées d'ensemble sur la sexualité des Levures, d'après mes recherches* [**63, 89**]. — Tout l'ensemble de mes recherches sur la sexualité des Levures montre d'une manière très frappante que les Levures constituent un des exemples les mieux caractérisés d'un groupe où la sexualité est en voie de rétrogradation et où l'on peut suivre toutes les phases progressives de la disparition de ce phénomène. Si l'on jette un regard d'ensemble sur les Saccharomycétacées, on peut distinguer quatre types de Levures marquant les quatre étapes de l'évolution régressive de la sexualité (fig. 13) :

1° Les unes qui conservent la copulation ancestrale isogamique (A et B) ou hétérogamique (C) à l'origine de l'asque *(Schizosaccharomyces, Zygosaccharomyces, Debaryomyces)*;

2° D'autres, qui ont perdu cette copulation, tout en conservant des vestiges d'attraction sexuelle *(Schwanniomyces* et *Torulaspora Rosei)*;

3° D'autres (F) qui ont perdu la copulation ancestrale et l'ont remplacée par une copulation entre les ascospores (*S. Ludwigii*, etc.);

4° D'autres (E) enfin, qui n'ont plus aucune manifestation sexuelle; ce sont les plus nombreuses.

Mes recherches sur la sexualité des Levures ont été récompensées par l'Académie des Sciences (Prix Desmazières, 1904).

C. — ORIGINE DES LEVURES

[5, 6, 7, 35, 39, 48, 52]

On sait que la question de l'origine et de la position systématique des Levures était, depuis Pasteur, l'objet des plus vives controverses. Tandis que certains auteurs, tels que Hansen, admettaient que les Levures constituaient un groupe autonome de Champignons voisins des Exoascées, pour d'autres, les Levures n'étaient que des formes du développement de Champignons plus élevés dont la forme parfaite restait inconnue (Brefeld). L'existence d'une copulation précédant la formation des asques dans certaines Levures, jointe aux phénomènes cytologiques de la sporulation, m'avait amené à identifier le sac sporifère des Levures à l'asque des Ascomycètes. Elle apportait donc la démonstration que les Levures constituent un groupe autonome d'Ascomycètes.

Ces faits m'ont donc permis, dès mes premières recherches, (1901) [**4**, **5**, **6**, **7**] d'affirmer que le problème de l'origine des Levures avait reçu une solution définitive. Cependant peu de temps après, certains auteurs croyaient avoir obtenu la transformation en Levures, capables de sporuler, de deux Sphæriacées, le *Glæosporium nervisequum* et le *Glæosporium ampelophagum* qui possèdent, d'autre part, des perithèces.

Après avoir montré [**35**, **39**] par une série d'arguments tirés de mes recherches sur le développement des Levures qu'il est impossible théoriquement d'admettre les résultats de ces auteurs, j'ai repris l'étude du développement du *Glæosporium nervisequum* [**48**, **52**]. Je n'ai jamais obtenu dans mes cultures de ce Champignon autre chose qu'un mycélium fournissant des conidies et des pycnides.

Pour essayer d'obtenir la transformation du *Glæosporium nervisequum* en Levures j'ai cultivé le Champignon sur les milieux sucrés les plus variés. A aucun moment et en aucune circonstance, je n'ai obtenu, ni dans les milieux sucrés solides, ni dans les milieux sucrés liquides, la moindre trace de forme de Levures.

Mes résultats aboutissent donc à la conclusion que le *Glæosporium nervisequum* est incapable de se transformer en Levures, dans quelques conditions que l'on le mette. L'autonomie des Levures s'est trouvée d'ailleurs par la suite définitivement résolue par mes recherches ultérieures sur les Endomycétacées.

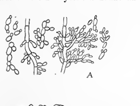
D. — ENDOMYCÉTACÉES

[51, 53, 54, 60, 67, 100]

Jusqu'au moment où j'ai abordé ces recherches, la position des Levures dans la classification des Champignons était restée très incertaine, par suite du manque de connaissances sur la phylogénie de ce groupe de Champignons. Rees et de Bary avaient été conduits à homologuer le sac sporifère des Levures à l'asque de Ascomycètes et à rapprocher les Levures des Exoascées. Cette opinion fut adoptée ensuite par Hansen et reçut un fort appui dans mes recherches sur la cytologie des Levures. Cependant, on doit convenir que, s'il est naturel de rapprocher les Levures et les Exoascées, il existe des différences notables entre ces deux groupes d'Ascomycètes. Les Exoascées en effet présentent dans les cellules destinées à se transformer en asques deux noyaux, et ce n'est qu'après la fusion de ces deux noyaux que ces cellules se développent en asques. Chez les Levures, j'avais démontré que ce phénomène fait défaut, quand l'asque ne dérive pas d'une copulation. Il semblait que l'on pouvait trouver des formes plus rapprochées des Levures dans la famille des Endomycétacées. Malheureusement, cette famille était à peine connue. Cependant, Mlle Stopell venait de découvrir l'*Eremascus fertilis* où elle avait décrit la formation des asques par une copulation isogamique. D'autre part, Lindner avait isolé, à la même époque, l'*Endomyces fibuliger*, et Schiönning, le *Saccharomycopsis capsularis*. J'ai donc abordé ces recherches avec le double but d'entreprendre une étude systématique de ce groupe d'Ascomycètes inférieurs encore à peine connu, et en même temps d'éclaircir le problème de la phylogénie des Levures.

Développement et sexualité. — On ne connaît jusqu'ici que deux genres d'*Eremascus*, l'*Eremascus albus* (Eidam) et l'*Eremascus fertilis* (Stoppell). La cytologie du premier n'a pas été faite, mais on sait par les travaux d'Eidam que les asques dérivent d'une copulation isogamique. Mes recherches sur l'*Eremascus fertilis* m'ont permis de confirmer et de compléter les observations de Mlle Stoppell. Le Champignon se présente sous forme d'un mycélium cloisonné et ramifié dont les articles, d'abord plurinucléés dans les extrémités des filaments, deviennent bien vite mononucléés. Le mycélium ne donne jamais d'autres formes de reproduction que des asques. Ceux-ci dérivent d'une copulation isogamique qui s'effectue généralement entre deux cellules contiguës d'un filament, rarement entre deux cellules appartenant à des filaments différents. Les deux cellules s'unissent au moyen de diverticules jouant le rôle de gamètes, qui s'anastomosent, formant ainsi une sorte de pont qui relie les deux cellules (fig. 15 : A, 1 et 2). La cloison qui sépare les deux cellules, au milieu du canal de copulation, ne tarde pas à se résorber ; une partie du cytoplasme s'introduit dans ce canal, puis se concentre dans ce dernier qui forme un renflement sphérique, lequel deviendra la zygospore. A ce moment, les deux cellules divisent leur noyau :

l'un des noyaux-fils, issus de cette dernière, reste dans la cellule, l'autre s'introduit dans la zygospore (fig. 15 : A, 3 et 4). Là les deux noyaux (fig. 15 : A, 3 et 4) sexuels se fusionnent, puis cette fusion opérée, la zygospore se sépare par une cloison transversale des deux branches qui lui ont donné naissance (fig. 15 : A, 5). A partir de ce stade, la zygospore grossit et se transforme en un asque octosporé tout à fait semblable à celui des Levures (fig. 15 : A, 7). J'ai constaté de nombreux cas de parthénogénèse : tantôt une cellule du mycélium donne un diverticule isolé qui se développe directement en asque, tantôt les deux diverticules formés par des cellules contiguës se transforment chacun en asque sans s'unir. Enfin, il arrive même que les asques se développent directement aux dépens d'une cellule intercalaire du mycélium.



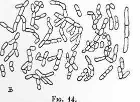


FIG. 14.
A, Levures et mycélium en voie de former des Levures dans *Endomyces fibuliger*. — B, Oïdies d'*Endomyces Magnusii*.

Mes recherches établissent que, par la copulation qui précède la formation des asques, l'*Eremascus* ressemble beaucoup aux Levures ; il en diffère par le fait que ses cellules, au lieu d'être dissociées, restent réunies en filaments et constituent un mycélium.

L'*Endomyces fibuliger* (Lindner) est caractérisé par un mycélium cloisonné et ramifié dont les articles donnent naissance, par une sorte de bourgeonnement latéral ou terminal, à des conidies rondes qui ne sont pas sans rappeler les Levures, mais qui sont incapables de se développer dans le milieu où elles sont nées. Le mycélium possède, en outre, le pouvoir, dans certaines conditions, de former également par bourgeonnement de véritables Levures qui, une fois détachées, continuent à se multiplier (fig. 14 : A). Les asques se développent dans des cellules issues du bourgeonnement des articles du mycélium ou aux dépens de ces articles eux-mêmes. Lindner avait constaté dans le mycélium de fréquentes anastomoses entre les articles, mais il n'avait pas donné d'interprétation de ce phénomène.

Mes recherches ont complété celles de Lindner par une étude cytologique du Champignon et ont mis en lumière la signification des anastomoses. Leurs résultats ont montré que le mycélium renferme des cellules toujours uninucléées et se rapportent surtout à l'étude de la formation des asques. Ceux-ci naissent parfois isolément par simple bourgeonnement des articles ; mais, dans la majorité des cas, ils se forment après des essais de copulation aux dépens d'une anastomose qui relie les deux cellules voisines et par le procédé suivant : deux articles du mycélium émettent chacun un petit diverticule. Les deux diverticules s'anastomosent, mais la cloison qui les sépare ne se résorbe généralement pas, et en tout cas, il ne s'effectue aucun mélange entre le

contenu des deux cellules anastomosées. Généralement l'un des diverticules arrête son développement, l'autre s'allonge, se recourbe sur le premier et donne naissance en se renflant à une grosse cellule. Le noyau de l'article correspondant se divise alors

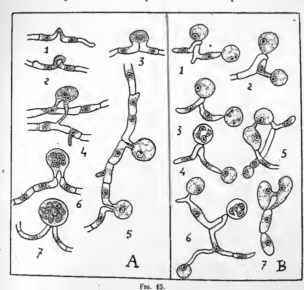


Fig. 15.

A, Copulation dans *Eremascus fertilis* : 1 et 2, Début de la copulation ; 3 et 4, Rapprochement des noyaux. 5, Œuf dans lequel la fusion nucléaire est opérée ; 6 et 7, Transformation de la zygospore en asque. — B, Formation des asques dans *Endomyces fibuliger* : 1 à 6, Asques formés aux dépens d'une anastomose, sans copulation, 5 et 6, Asques essayent de s'anastomoser. On voit qu'ici les asques dérivent de cellules qui ont cherché à s'unir sans y parvenir. Ces essais d'anastomoses montrent que l'*Endomyces fibuliger* a perdu sa sexualité primitive qui devait être semblable à celle de l'*Eremascus*.

et envoie l'un des noyaux-fils issus de cette division dans la grosse cellule qui se transforme bientôt en asque tétrasporé dont les ascopores, en forme de chapeau à bord saillant, sont semblables à celles des Levures du genre *Willia* (fig. 15 : B, 1 à 6). Parfois, cependant, les deux diverticules formés côte à côte se développent chacun en asque sans s'anastomoser. Il peut arriver, qu'avant de sporuler, les deux asques ainsi formés s'anastomosent sans résorber leur cloison séparatrice (fig. 15 : B, 5 et 7). Enfin, deux cellules intercalaires du mycélium peuvent s'anastomoser sans résorber leur membrane et évoluer chacune en asque.

Mes recherches démontrent donc que les anastomoses signalées par Lindner sont toujours en relation avec la formation des asques [1].

On peut ainsi comprendre, d'après mes recherches, que bien que toute sexualité ait disparu, il existe encore un rudiment d'attraction sexuelle tout à fait comparable au phénomène que j'ai mis en évidence dans certaines Levures (*Schwanniomyces*, etc.). Quand on compare ces anastomoses avec la reproduction sexuelle de l'*Eremascus fertilis*, on est frappé de la ressemblance qui existe entre le mode de formation des asques dans ces deux Champignons, et l'on est obligé d'admettre que les anastomoses de l'*Endomyces fibuliger* sont les vestiges d'une copulation semblable à celle qui se produit dans l'*Eremascus fertilis* (fig. 15 : A et B).

Le *Saccharomycopsis capsularis* décrit par Schiönning offre un mycélium typique donnant par bourgeonnement de nombreuses Levures. Les asques renferment 4 ascospores et se forment dans des cellules issues du bourgeonnement latéral des articles du mycélium ou dans des cellules intercalaires de ce mycélium, sans aucune anastomose. D'après mes recherches, le mycélium est toujours formé de cellules à un seul noyau et les asques ont perdu ici toute trace de sexualité. Mes recherches m'ont amené à rapprocher ce Champignon de l'*Endomyces fibuliger* dont il ne diffère que par l'absence de conidies et la disparition de tout vestige de sexualité à l'origine de l'asque. En rapprochant ce Champignon de l'*Endomyces fibuliger*, je suis donc arrivé à le considérer comme une forme très voisine et à le séparer des Levures sous le nom d'*Endomyces capsularis*.

D'autres *Endomyces*, tels que l'*E. decipiens* et l'*E. Magnusii*, se présentent sous forme d'un mycélium qui ne donne jamais de Levures, mais se tronçonne en cellules rectangulaires que l'on désigne sous le nom d'oïdies (fig. 14 : B) : une fois séparées, ces oïdies peuvent continuer à s'accroître par cloisonnement transversal. Mes recherches sur l'*E. Magnusii*, de même que mes observations antérieures sur l'*Oidium lactis* qui produit aussi des oïdies, me conduisent à admettre qu'il y a lieu d'assimiler ces oïdies aux Levures des *Schizosaccharomyces*. Dans l'*E. decipiens*, les asques naissent dans des cellules issues du bourgeonnement du mycélium et ne sont précédées d'aucune sexualité. Au contraire, dans l'*E. Magnusii*, les asques dériveraient, selon Ludwig, d'une copulation, mais ce phénomène n'ayant été l'objet d'aucune observation cytologique et n'ayant pas été revu depuis Ludwig, avait besoin de confirmation. Dangeard qui a étudié ces deux Champignons, a montré que l'*E. decipiens* possède des articles toujours uninucléés ; par contre dans l'*E. Magnusii*, les articles sont parfois uninucléés, mais plus souvent plurinucléés. La formation des asques, dans ce Champignon, ne se produit que difficilement dans des conditions encore mal déterminées, et Dangeard n'a pu réussir à l'obtenir. Plus heureux que Dangeard, j'ai pu assister à la formation de nombreux asques dans des cultures sur carotte : ce qui m'a permis de réaliser une étude très complète de la sexualité.

La copulation est hétérogamique et s'effectue entre un gamète mâle et un gamète

[1] Depuis mes recherches sur l'*Endomyces fibuliger*, Juel a décrit des phénomènes semblables, pendant la formation de l'asque, dans l'*Endomyces decipiens* (Cytologische Pilzstudien, *Nova Acta Regiæ Societatis Scientiarum upsaliensis*, 1921, p. 4).

femelle, nés chacun à l'extrémité d'un rameau du mycélium (fig. 16). L'anthéridie peut naître aux dépens de la cellule située au-dessous de l'oogone ou appartenir à un autre filament. Elle offre l'aspect d'un filament très mince et plus ou moins enroulé en spirale, à l'extrémité duquel se délimite une petite cellule qui représente le gaméte mâle. L'oogone est un rameau renflé, parfois légèrement recourbé en crosse, dont la partie supérieure devient le gaméte femelle. Celui-ci ne se délimite que tardivement, peu

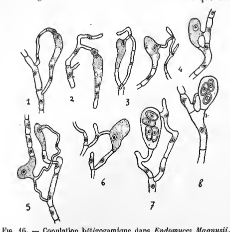


Fig. 16. — Copulation hétérogamique dans *Endomyces Magnusii*.

1 et 2, Anastomose des rameaux mâle et femelle ; le gamète mâle est délimité, mais le gamète femelle ne s'est pas encore séparé par une cloison du rameau qui lui donne naissance. — 3 et 4, Stades où les deux noyaux vont se fusionner. — 5 et 6, Stades succédant à la fusion nucléaire. — 7 et 8, Asques complètement formés.

avant la copulation. Les articles du mycélium et les oïdies peuvent renfermer parfois un seul noyau, mais sont presque toujours plurinucléés, comme l'a montré Dangeard ; mais le gaméte mâle et le gaméte femelle ne possèdent qu'un seul noyau. L'anthéridie va à la rencontre de l'oogone et s'anastomose avec lui. La cloison mitoyenne qui sépare le gaméte mâle du gamète femelle se résorbe et les deux cellules se fusionnent protoplasme à protoplasme et noyau à noyau et bientôt ne font plus qu'une seule cellule. L'œuf ainsi formé grossit et se transforme en asque tétrasporé.

Les détails de la structure de ces Champignons sont, d'après mes recherches, les mêmes que dans les Levures : noyaux de formes semblables, se divisant dans le mycélium par amitose, et vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques. Les phénomènes cytologiques de la sporulation s'opèrent comme dans les Levures, et les divisions nucléaires de l'asque sont des mitoses.

E. — PHYLOGÉNIE DES LEVURES

[55, 57, 60, 77, 78, 79]

Au point de vue taxinomique, les recherches que je viens d'analyser démontrent qu'il y a lieu de rapprocher les Saccharomycétacées des Endomycétacées qui doivent être considérées comme deux familles extrêmement voisines des Protoascées. La con-

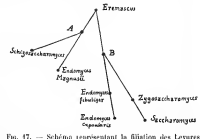


Fig. 17. — Schéma représentant la filiation des Levures.

naissance des Endomycétacées, qui résulte de nos recherches, éclaire d'un jour nouveau la question de la phylogénie des Levures. En effet, il semble permis de voir dans le genre *Eremascus* une forme ancestrale souche (fig. 17). De celle-ci proviendrait une forme encore hypothétique voisine de l'*Endomyces fibuliger*, mais en différant par l'existence de la copulation caractéristique de l'*Eremascus*. Cette copulation qui est réduite à des essais infructueux chez l'*E. fibuliger*, a complètement disparu chez l'*E. capsularis*. De cette forme hypothétique (*Endomyces* B du schéma), les Levures dériveraient par régression à la fois de la sexualité qui tendrait à disparaître et de la forme mycélienne qui céderait la place aux formes Levures.

En somme, ce Champignon hypothétique, dérivé de l'*Eremascus*, serait la souche de deux branches, l'une avec l'*E. fibuliger* et l'*E. capsularis*, l'autre avec le genre *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces*. Le genre *Saccharomyces* représenterait une forme parthénogénétique dérivée du *Zygosaccharomyces* comme semble l'indiquer l'existence de formes intermédiaires où les asques, bien que se formant toujours sans copulation, conservent cependant des vestiges d'attractions sexuelles.

Reste à expliquer maintenant l'origine des *Schizosaccharomyces*.

L'étude que j'ai faite de l'*E. Magnusii* semble apporter également quelques renseignements à ce sujet. L'*E. Magnusii* se rapproche, dans l'ensemble de son développement, de l'*E. fibuliger*, mais il s'en distingue nettement par le fait qu'au lieu de produire

des formes Levures, il donne naissance, par dissociation des articles de son mycélium, à des oïdies qui sont comparables aux cellules des *Schizosaccharomyces*. Bien qu'hétérogamique, sa copulation rappelle celle de *Sch. octosporus*. Dès lors, on peut considérer les *Schizosaccharomyces* comme dérivés d'une forme analogue à l'*E. Magnusii* (*Endomyces* A du schéma), mais moins évoluée, de laquelle se seraient détachés d'une part l'*E. Magnusii* et l'*E. decipiens*, et d'autre part les *Schizosaccharomyces*.

En résumé, il semble légitime de considérer les Levures comme dérivées d'un genre très voisin de l'*Eremascus*. De cette souche se seraient détachés deux rameaux : l'un qui aurait donné naissance à l'*E. Magnusii* et au *Schizosaccharomyces*, l'autre qui aurait fourni l'*E. fibuliger*, les *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces*, ainsi que les autres représentants des Levures.

La question de la phylogénie des Levures pourrait donc être considérée comme résolue à la suite de mes recherches [1]. Il me semble donc permis de penser que ces travaux ont apporté un progrès important dans la connaissance de ces Champignons. Nous sommes loin du temps où l'on discutait avec Pasteur sur l'origine des Levures.

Depuis la publication de mes recherches, la découverte de nouveaux types de Champignons intermédiaires entre les Levures et les *Endomyces* est venue apporter une confirmation à mon opinion. C'est ainsi que Saïto a découvert deux nouvelles

[1] Mes conceptions sur la phylogénie des Levures sont devenues rapidement classiques : c'est ainsi que le professeur Lindner, de Berlin, s'exprime ainsi, à propos de notre travail sur les Endomycétacées :

« Guilliermond a confirmé l'affinité de l'*Endomyces fibuliger* avec les ferments bourgeonnants et fut amené par cette découverte à l'étude détaillée des *Endomyces*. Cette étude menait à la belle découverte des relations qui existent entre un autre groupe des *Endomyces* et celui des *Schizosaccharomyces*, de telle sorte que dès lors le problème tant cherché de la filiation des Levures était résolu » (Lindner, Rapport au Congrès international des Brasseries, Bruxelles, 1910).

Voici, d'autre part, ce que dit M. Pavillard :

« Les découvertes récentes de Guilliermond, brièvement résumées ci-dessus, nous donnent l'impression d'un ensemble naturel d'un groupe harmonique, et non d'un chaos de formes hétérogènes accidentellement rapprochées par les hasards de convergence.

« Sans vouloir suivre Guilliermond dans le menu détail de ses spéculations phylogénétiques, il paraît hors de doute que nous possédons aujourd'hui les fondements essentiels d'une phylogénie systématique des *Saccharomyces*

« Avec Guilliermond, nous considérons *Eremascus fertilis* comme un type très archaïque et très primitif d'Ascomycètes, voisin de la forme souche qui aurait donné naissance aux *Endomyces* et aux formes voisines telles que *Podocapsa* et *Oleina*.

« Un premier rameau issu de la souche ancestrale aurait subi une évolution spéciale, caractérisée au point de vue végétatif par l'adaptation au bourgeonnement (formes Levures), et au point de vue reproducteur, par la disparition progressive de la sexualité. A cette série appartiennent d'une part *Endomyces fibuliger* et *Endomyces capsularis*, d'autre part les *Zygosaccharomyces* et les *Saccharomyces* proprement dits.

« Un deuxième rameau, détaché non loin du premier, aurait subi une évolution parallèle, caractérisée avant tout par l'adaptation progressive de l'appareil végétatif à une désarticulation plus ou moins complète en oïdies. Cette deuxième série moins homogène, moins nombreuse, mais aussi nette, comprendrait, entre autres, *Endomyces Magnusii* et tous les *Schizosaccharomyces* » (Pavillard, État actuel de la Protistologie végétale, *Progressus rei botanicæ*, 1910, p. 520).

Ma théorie de la phylogénie des Levures a été adoptée dans la plupart des traités de microbiologie ; elle se trouve reproduite notamment dans la *Microbiologie agricole* de Kayser, pp. 317-318.

espèces d'*Endomyces* : l'*E. Linderii*, dans lequel mon élève, M. Mangenot, a montré que les asques conservent, comme dans l'*E. fibuliger*, des vestiges de sexualité, et l'*E. Hordei* espèce très voisine où toute trace de sexualité a disparu. Klöcker a d'autre part décrit l'*E. javanensis*, forme dans laquelle le mycélium se réduit de plus en plus au dépens des Levures qui prédominent : les asques se forment sans copulation, indifféremment aux dépens des cellules du mycélium ou des Levures. Enfin, j'ai moi-même décrit deux nouvelles formes semblables (Levure de Pulque 2) et *Debaryomyces Klöckeri* [**125**, **145**, **166**] qui sont incontestablement des types de transitions entre les Endomycétacées et les Saccharomycétacées (voir p. 29 et 30).

F. — MONOGRAPHIE DE NOUVELLES ESPÈCES DE LEVURES

J'ai eu l'occasion, au cours de mes recherches, d'isoler et de décrire un certain nombre de nouvelles espèces de Levures. La plupart de ces espèces offrent, par leur sexualité ou les particularités de leur développement, des caractères très intéressants au point de vue phylogénétique.

Cryptococcus Guilliermondi (Beauverie et Lesieur) [**76**].

Cette espèce a été isolée par le Dr Lesieur des crachats d'une malade atteinte de cancer secondaire du poumon. Je l'ai décrite, puis elle a reçu ensuite le nom de *Cryptococcus Guilliermondi* (Beauverie et Lesieur).

Levures de la mission Chevalier (Guilliermond) [**110**].

J'ai décrit quatre espèces nouvelles de Levures rapportées d'Afrique Occidentale par la mission Chevalier et dont le professeur Mangin nous a fait l'honneur de nous confier l'étude.

Trois de ces espèces : *Saccharomyces Chevalieri*, *Mangini* et *Lindneri* (Guilliermond), sont voisines du *S. ellipsoideus* Elles offrent toutes, au moment de la germination, une copulation des ascospores, semblable à celle que j'ai fait connaître dans diverses Levures (*S. Ludwigii*, etc.) (voir p. 15).

Une quatrième espèce, le *Zygosaccharomyces Chevalieri* (Guilliermond) se rapproche du genre *Pichia*, mais présente, au moment de la sporulation, une copulation hétérogamique. Nous rappelons que c'est dans cette espèce que j'ai fait connaître pour la première fois la copulation hétérogamique dans les Levures (fig. 7).

La dernière, *Mycoderma Chevalieri* (Guilliermond), présente les caractères d'un Mycoderme : elle donne des formations mycéliennes assez développées.

Toutes ces Levures paraissent adaptées aux températures élevées. Leur température maxima pour le bourgeonnement est située entre 40 et 47 degrés, alors que, dans les Levures ordinaires, elle est placée entre 38 et 39 degrés.

Zygosaccharomyces Nadsoni (Guilliermond) [114, 139].

Cette Levure isolée par nous d'un sirop d'écorce d'oranges amères présente des cellules variant du type *Torula* au type *Pastorianus*.

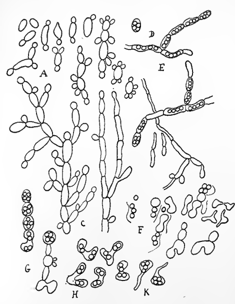


Fig. 18. — Levure de Pulque 2.

A, Levures. — C, Mycélium. — D, Asque formé dans une Levure. — E, Asques formés dans le mycélium. — F, Copulation et germination des ascospores. — G, Ascospores nées aux dépens des cellules issues de la germination des ascospores. — H, Asques formés dans des ascospores copulées. — K, Asques formés dans des ascospores n'ayant pas réussi à se conjuguer.

Elle ne produit pas de voile sur moût de bière. Ses asques dérivent d'une copulation hétérogamique et renferment 1 à 2, rarement 3 ascospores.

Levures de Pulque (Guilliermond) [125].

Chargé d'étudier les Levures de la fermentation du Pulque (boisson alcoolique du Mexique), j'ai pu isoler deux espèces nouvelles. L'une, Levure de Pulque 1, se rapporte au genre *Pichia*.

La seconde, Levure de Pulque 2, est une espèce extrêmement curieuse. Elle végète d'abord à l'état de Levures (fig. 18 : A), puis ensuite forme un mycélium typique donnant naissance, par bourgeonnement, à des Levures (fig. 18 : C). Les asques se forment en très grande abondance sur carotte et gélose de Gorodkowa ; ils naissent indifféremment aux dépens de Levures (fig. 18 : D) ou dans les articles du mycélium (fig. 18 : E) et renferment toujours 4 ascospores. Celles-ci sont mises en liberté au moment de la germination qui est presque toujours précédée d'une copulation (fig. 18 : F). Lorsque les ascospores germent sur carotte, et surtout sur gélose de Gorodkova, beaucoup d'entre elles, celles qui germent les dernières, au moment où les conditions d'alimentation deviennent défectueuses, se transforment aussitôt en asques après s'être conjuguées (fig. 18 : H); d'autres fois, l'œuf issu de leur copulation donne naissance seulement à deux ou trois cellules qui évoluent en asques (fig. 18 : G). On trouve aussi des asques nés dans des ascospores qui ont essayé, au moyen d'un diverticulo, de s'unir à d'autres sans y parvenir (fig. 18 : K). Cette espèce ressemble beaucoup à l'*Endomyces capsularis* et doit être considérée comme une forme de transition entre les Saccharomycétacées et les Endomycétacées.

Zygosaccharomyces Pastori (Guilliermond) [141, 167].

Cette espèce, que j'ai isolée du suintement muqueux d'un Marronnier des environs de Lyon, se présente d'abord uniquement sous forme de grosses cellules arrondies ou ovoïdes, puis ensuite offre un mélange de grosses cellules rondes et de petites cellules cylindriques. Cette Levure, dont nous avons décrit antérieurement la copulation hétérogamique (voir p. 13 et fig. 9), est une espèce dans laquelle la sexualité et la fonction sporogène sont en voie de s'éteindre. Elle présente par là un grand intérêt. Les asques renferment de 1 à 4 petites ascospores hémisphériques, à bords saillants, semblables aux ascospores du genre *Willia*. Cependant, par ses caractères culturaux, cette Levure ne présente rien do commun avec le genre *Willia*, d'où l'on peut conclure que la forme spéciale des ascospores de *Willia* n'est pas caractéristique de ce genre.

Debaryomyces Klœckerii (Guilliermond et G. Péju) [145, 166].

Isolée d'une tache blanche de la gorge d'un malade, atteint d'angine bénigne, par le Dr Péju, cette Levure ne paraît pas pathogène, car son bourgeonnement cesse à partir de 36-37 degrés. Elle se développe d'abord sous forme de cellules Levures très polymorphes, souvent apiculées (fig. 19, A et B), puis donne au bout d'un certain temps des formes mycéliennes assez développées. Ces formes, rares dans les cultures à températures inférieures à 20 degrés, deviennent presque exclusives au voisinage de 35 degrés (fig. 19 : D, C et E).

Les asques se forment indifféremment aux dépens de Levures ou dans les cellules du mycélium. Ils sont précédés d'une copulation éthérogamique (fig. 19 : F). L'asque renferme une seule ascospore à paroi verruqueuse. Cette Levure, qui présente par sa copulation et la forme de ses ascospores les caractères du genre *Debaryomyces*, offre d'autre part, par son mycélium bien caractérisé, des formes de transition entre les Saccha-

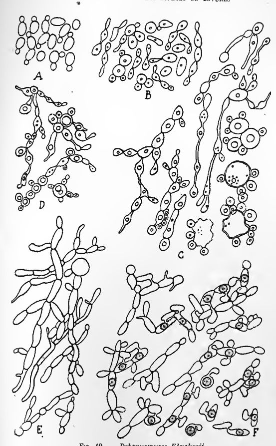


Fig. 19. — *Debaryomyces Klœckerii.*

A, Levures provenant d'une très jeune culture sur moût de bière. — B, Levures d'une culture plus âgée. — C, Formes mycéliennes dans une vieille culture sur moût de bière gélosé. — D, Formations mycéliennes d'un voile sur moût de bière. — E, Mycélium d'une culture sur moût de bière, à 35°. — F, Divers stades de la copulation hétérogamique et de la formation des asques.

romycétacées et les Endomycétacées. Elle se rapproche un peu de l'*Endomyces javanensis* (Klöcker). Elle est donc très intéressante au point de vue phylogénétique.

Debaryomyces Nadsoni (Guilliermond et Péju) [**176**].

Espèce isolée par le Dr Péju d'un sycosis de la barbe. On y observe une copulation hétérogamique et les caractères du genre *Debaryomyces*.

Levures des saucissons (Cesari et Guilliermond) [**162**].

Au cours du séchage des saucissons crus, on voit apparaître, vers le cinquième jour à la surface de l'enveloppe, un semis de petits grains blanchâtres qui constitue ce que les praticiens désignent sous le nom de « fleur de saucisson ».

Les recherches de M. Cesari ont montré que ces grains représentent des colonies mixtes composées de Levures et de Staphylocoques. M. Cesari a rencontré également des Levures dans le hachis de viande salée qui forme la pâte du saucisson et dans la saumure qui sert à la salaison des viandes, ainsi que sur les pièces de salaison sèche et les lards salés. M. Cesari, qui a isolé ces Levures, leur a attribué un rôle dans le phénomène de maturation des saucissons. M. Cesari m'a associé à lui pour la détermination de ces Levures.

Il résulte de mes études, faites en collaboration avec M. Cesari, que toutes les Levures isolées dans ces conditions et qui sont au nombre de treize présentent les caractères du genre *Debaryomyces*.

Leurs cellules sont en général, sauf quelques exceptions, rondes et ressemblent à des *Torula*. Elles offrent toutes une copulation hétérogamique précédant la sporulation. Celle-ci s'effectue le plus souvent entre une grosse cellule et l'une des petites cellules issues de son bourgeonnement ; le contenu de la petite cellule passe dans la grosse qui forme un asque à une seule ascospore, très rarement deux, à paroi verruqueuse (fig. 8). Dans certaines espèces, on constate des formes de transition entre l'isogamie et l'hétérogamie.

Ces Levures ne se développent généralement qu'à des températures inférieures à 35 degrés. Les unes forment sur moût de bière, dès le début, un voile sec, plissé, et un anneau, les autres ne produisent qu'un voile très ténu, les autres enfin ne donnent qu'un anneau tardif. Nos recherches établissent donc que le genre *Debaryomyces* renferme à la fois des espèces végétant dans les liquides sous forme de voile et des espèces ne se développant qu'à l'état de dépôt, ce qui montre que la classification de Hansen, qui se sert de ce caractère pour diviser les Levures en deux groupes, est arbitraire.

Aucune de ces espèces ne fait fermenter les différents sucres.

Cette étude, jointe aux précédentes, montre la grande abondance des espèces du genre *Debaryomyces* découvert, en 1910, par Klöcker. L'un de mes élèves, M. Grigoraki, a eu l'occasion d'isoler également une autre espèce du même genre, le *Debaryomyces Matruchoti*, trouvé dans les selles d'un malade atteint de diarrhée.

Monilia pathogène (Brocq-Rousseu, des Cilleuls et Guilliermond) [**215**].

J'ai étudié en collaboration avec MM. Brocq-Rousseu et des Cilleuls, un Champignon pathogène isolé des crachats d'un soldat atteint d'une affection qui avait été diagnostiquée comme une tuberculose. Les crachats ne contenant pas de bacilles de Koch, mais seulement des levures, le médecin traitant pensa à une bronchiomycose et le malade fut rapidement guéri par une médication iodurée. Le Champignon cultivé montre à la fois des formes Levures et des formes mycéliennes et présente les caractères d'une *Monilia* qui diffère des *Monilia* actuellement connues et paraît être une espèce nouvelle.

G. — ÉTUDES CYTOLOGIQUES ET TAXINOMIQUES DE QUELQUES ESPÈCES VOISINES DES LEVURES

Kluyver et Van Niel ont créé le genre *Sporobolomyces* pour un groupe de Levures à pigment rouge, qui ne produisent pas d'asques et sont caractérisées par le fait que les cellules, après un bourgeonnement normal, émettent un stérigmate à l'extrémité duquel naît une conidie réniforme. Les conidies ainsi formées sont projetées à distance grâce à un mécanisme semblable à celui qu'a décrit Buller pour les basidiospores de certains Hyménomycètes et si l'on cultive ces Levures sur gélose, en boîte de Petri retournée, celles-ci viennent se déposer sur le couvercle sous forme de taches blanches qui reproduisent exactement l'image de la colonie et que pour cela on a désigné sous le nom de miroir. Kluyver et Van Niel avaient été amenés à rapprocher ces conidies des basidiospores et à classer les *Sporobolomyces* dans les Hémibasidiées. J'ai cherché à vérifier ce rapprochement par une étude cytologique de trois espèces de *Sporobolomyces : S. roseus*, *S. tenuis* et *S. salmonicolor*.

1. — Levures du genre *Sporobolomyces* (218-227).

L'étude de ces trois espèces en culture sur chambre de Böttcher m'a permis de vérifier les résultats de Kluyver et Van Niel relativement à leur développement : les conidies recueillies sur le couvercle d'une boîte de Petri et ensemencées en chambre humide germent par bourgeonnement et produisent des cellules-levures qui restent adhérentes sous forme de petites colonies. Celles-ci, au bout de 24 heures, cessent de bourgeonner et produisent un stérigmate très mince et plus ou moins allongé qui forme à son extrémité une conidie réniforme (figure 20) ; souvent le stérigmate peut se ramifier en plusieurs branches dont chacune porte une conidie. Dans *S. salmonicolor*, on observe des rudiments mycéliens et les conidies peuvent naître indifféremment aux dépens des levures ou aux dépens des filaments mycéliens.

L'étude cytologique de ces Levures m'a fourni l'occasion d'observer la formation du pigment. Le pigment de ces Levures est localisé dans des gouttelettes lipoïdes qui ne présentent pas les caractères microchimiques de la carotine. Il n'est pas soluble dans le

chloroforme, la benzine, le sulfure de carbone et l'alcool et très peu soluble dans l'éther quand on traite directement la culture par ces substances. Par ces caractères, il diffère du pigment de même couleur que l'on rencontre dans les paraphyses de certaines Pezizes (notamment d'*Humaria rutilans* que j'ai examinée en même temps) et qui se trouve également dans des gouttelettes lipoïdes, mais qui offrent les caractères microchimiques de la carotine. Il semble cependant que le pigment est une carotine unie à un complexe lipo-proétique qui modifie ses caractères microchimiques.

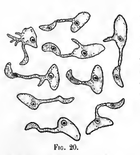


Fig. 20.

Sporobolomyces roseus. Formation des conidies (Fixation au liquide de Bouin et coloration à l'hématoxyline ferrique).

Après fixation et coloration, les cellules de ces Levures montrent un seul noyau constitué par un nucléoplasme au milieu duquel se trouve un gros nucléole. Lors du bourgeonnement, ce noyau se place vers le bourgeon, s'allonge en pénétrant dans le bourgeon, puis se divise par étranglement en deux noyaux-fils (amitose). Pendant la formation des conidies, le noyau se divise également par amitose et l'un des noyaux-fils s'introduit en s'effilant dans le stérigmate (fig. 20). Les rudiments mycéliens de *S. salmonicolor* ne sont pas cloisonnés et n'offrent qu'un seul noyau. Le chondriome, constitué par de longs chondriocontes, ne montre pas de relation avec les granulations pigmentaires, contrairement à ce que l'on admet en cytologie animale.

La conclusion de mes recherches est que les cellules de ces Levures, n'offrant à tous les stades de leur développement qu'un seul noyau, tout rapprochement entre les *Sporobolomyces* et les Hémibasidiées doit être écarté, contrairement à l'opinion de Kluyver et Van Niel.

2.— Cytologie et taxinomie du genre *Nematospora* [220, 228].

Peglion a découvert, sur des Noisettes, un Champignon voisin des Levures pour lequel il a créé le genre *Nematospora* et qu'il a désigné sous le nom de *N. Coryli*. Ce Champignon produit huit ascospores, en forme de fuseau, prolongées à leur extrémité par un appendice ressemblant à un flagellum. Depuis de nouvelles espèces du genre *Nematospora* ont été décrites : le *N. Lycopersici*, Schneider, le *N. Phaseoli*, Wingard ; enfin, récemment, Ashby et Nowell ont isolé de la maladie des graines de Cotonnier désignée sous le nom de stigmatomycose, le *N. Gossypii*.

Les Champignons du genre *Nematospora* ont été rapprochés des Saccharomycétacées par Peglion et Wingard; mais Hansen avait cru prudent de ne pas les comprendre dans cette famille et les avait classés dans un groupe provisoire désigné sous le nom de Levures douteuses. Ashby et Nowell inclinent à séparer le genre *Nematospora* des Levures et à le ranger dans les Hémiascées. D'autre part Schneider et Wingard ont admis, sans en apporter une preuve suffisante, l'existence d'une copulation précédant la formation de l'asque dans les *N. Phaseoli* et *Lycopersici*, ce qui les rattacherait

aux Levures. A tous ces points de vue, il était donc intéressant de reprendre l'étude de ces Champignons et surtout au point de vue cytologique.

Mes recherches ont porté sur le *N. Coryli* et le *N. Gossypii*. Le *N. Coryli* donne, sur les milieux solides, un enduit ressemblant tout à fait à la végétation d'une Levure. Dans les milieux liquides, il forme un voile délicat et un anneau très développé à la surface du liquide. Dans tous les milieux, il produit d'abord des Levures de formes et de dimensions très variées, puis bientôt des filaments mycéliens qui parfois prennent

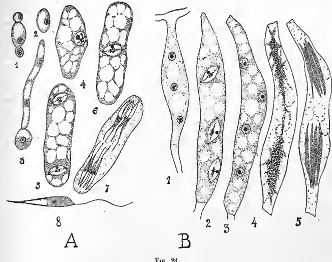


Fig. 21.

A. Développement du *Nematospora Coryli* : 1 et 2, Formes Levures — 3, Filament mycélien. — 4, Jeune asque à un seul noyau. — 6, *Id*. Première mitose. — 5, *Id*. Deuxième mitose. — 7, Asque achevé avec ses 8 ascospores. — 8, Ascospore vue à un fort grossissement.
B. Développement d'*Ashbya Gossypii* : 1, Jeune sac sporifère. — 2, Stade plus avancé avec noyaux en voie de mitose. — 3, *Id*. Avec noyaux au repos. — 4, *Id*. Différenciation du néoplasme. — 5, Formation des spores (Fixation au liquide de Bouin et coloration à l'hématoxyline ferrique).

un assez grand développement. Les Levures ne possèdent qu'un seul noyau (fig. 21 : A, 1 et 2); les filaments mycéliens ont des cloisons rares, séparant des articles qui peuvent renfermer deux ou trois noyaux (fig. 21 : A, 3). Dans tous les milieux solides, le Champignon forme très rapidement des asques : ceux-ci naissent soit aux dépens de levures, soit aux dépens d'articles du mycélium, qui se renflent et devien-

nent des cellules relativement volumineuses. L'observation de la formation de ces asques en gouttelettes pendantes m'a permis de démontrer qu'ils ne résultent d'aucun phénomène sexuel, seulement les asques naissent parfois aux dépens de cellules levures qui ont commencé à bourgeonner et sont pourvues d'un bourgeon incomplètement formé, ce qui a fait croire à l'existence d'une copulation. Ces asques ne renferment jamais qu'un seul noyau au moment de leur formation (fig. 21 : A, 4). Ce noyau subit ensuite deux mitoses successives qui offrent les mêmes caractères que celle que j'ai décrite dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus* (voir p. 4) et dans l'asque des Ascomycètes supérieurs : ce sont des mésomitoses (fig. 21 : A, 5 et 6). Ces mitoses achevées, on voit se différencier, dans l'axe de la cellule, un sporoplasme très chromophile qui renferme les noyaux, tandis que tout le reste du cytoplasme, rempli de réserves, joue le rôle d'épiplasme. Bientôt le sporoplasme se découpe en filaments qui prennent ensuite l'aspect d'ascospores. L'asque renferme presque toujours huit ascospores disposées en deux faisceaux (fig. 21 : A, 7). Ces ascospores sont fusiformes et offrent une portion antérieure en forme de pointe dans laquelle le cytoplasme se résorbe et une partie postérieure occupée par un cytoplasme très dense renfermant le noyau et qui se prolonge par un long appendice flagelliforme paraissant jouer le rôle d'organe adhésif. La partie antérieure vide de contenu est séparée du cytoplasme par une cloison transversale (fig. 21 : A, 8). Ces ascospores, une fois mises en liberté par rupture de la paroi de l'asque et placées dans un milieu favorable, se gonflent dans la région qui renferme le noyau : celle-ci devient sphérique, puis donne naissance latéralement soit à des levures, soit plus rarement à des filaments mycéliens. Parfois, lorsque la germination s'opère dans des conditions défavorables, la spore se renfle beaucoup et se transforme directement en un asque par une condensation du développement analogue à celle que j'ai constatée dans les Levures.

Le *N. Gossypii* offre des caractères tout à fait différents. En milieu solide, il donne un fin duvet blanchâtre semblable à la végétation d'une moisissure. Dans les milieux liquides, il produit des flocons mycéliens qui flottent dans le liquide. Il végète à peu près exclusivement sous forme d'un mycélium dont les articles renferment un nombre variable de noyaux. Fréquemment on voit se produire dans l'intérieur des filaments des bouchons de callose. Exceptionnellement certains filaments peuvent former, par bourgeonnement, des formes levures : mais celles-ci ne se détachent pas et finissent par s'allonger en filaments. Dans les milieux solides, le Champignon forme de nombreux sacs sporifères qui naissent en chaînes les uns à la suite des autres vers l'extrémité des filaments. Ceux-ci apparaissent d'abord comme des renflements (fig. 21 : B, 1) qui se délimitent par des cloisons transversales. Les cellules ainsi délimitées renferment toujours plusieurs noyaux : de deux à quatre ou plus. Ceux-ci paraissent subir deux divisions successives qui s'effectuent par des mésomitoses analogues à celles de l'espèce précédente (fig. 21 : B, 2). Les mitoses achevées, on voit se différencier dans l'axe de la cellule un sporoplasme très chromophile aux dépens duquel se forment les spores, tout le reste du cytoplasme constitue l'épiplasme (fig. 21 : B, 4 et 5). Les spores sont en nombre variable, qui est toujours un multiple de 2 : on en compte

le plus souvent douze ou seize, parfois quatre ou huit, exceptionnellement jusqu'à trente-deux. Ces spores sont disposées généralement en plusieurs faisceaux et ont une forme absolument semblable à celle du *N. Coryli*. Elles germent de la même manière, mais en donnant directement des filaments mycéliens. Parfois, cependant, elles produisent d'abord des Levures qui, sans se détacher, finissent par s'allonger en filaments. Il arrive enfin, dans les conditions défavorables d'alimentation, que les spores, une fois gonflées, se transforment directement en un petit sac sporifère.

Mes recherches font ressortir une différence essentielle entre le *N. Coryli* et le *N. Gossypii* : tandis que le sac sporifère du premier dérive d'une cellule uninucléée et présente le caractère d'un asque, celui du second se forme aux dépens d'un article plurinucléé et ne peut être assimilé à un asque. Le *N. Coryli* doit être rattaché aux Saccharomycétacées et rapproché des genres *Coccidiascus* (Chatton) et *Monospora* (Metchnikoff) qui offrent des ascospores rappelant celles de *N. Coryli*, tandis que le *N. Gossypii* présente les caractères des Hémiascées. J'ai donc été amené, malgré le caractère de ses spores, à séparer le *N. Gossypii* du genre *Nematospora* et à créer pour ce Champignon un genre nouveau, le genre *Ashbya*. Il ne semble pas y avoir plus de raison de rattacher cette espèce au genre *Nematospora* qu'il n'y en aurait à rattacher certaines Levures du genre *Willia* au genre *Ascoidea*, considéré comme une Hémiascée, parce que les spores de ces Levures ont cependant les mêmes formes caractéristiques que celles de l'*Ascoidea*.

L'étude de ces Champignons montre, en outre, que, malgré son origine aux dépens de cellules plurinucléées, le sac sporifère du genre *Ashbya* offre une grande ressemblance avec l'asque du genre *Nematospora* et qu'il existe par conséquent une étroite parenté entre les Hémiascées et les Protoascées, comme le montre d'ailleurs le genre *Ascoidea*. Ces considérations m'ont amené à formuler une hypothèse sur la signification des Hémiascées qui consiste à admettre que ces Champignons seraient des formes voisines du *Dipodascus*, dans lesquelles le sac sporifère aurait la valeur d'un asque et résulterait du développement parthénogénétique d'un gamétange dont les gamètes seraient représentés par des énergides. Les gamétanges des Hémiascées se seraient ensuite transformés en gamètes dans les Protoascées. Mais le groupe des Hémiascées est encore trop mal connu pour que l'on puisse considérer cette opinion autrement que comme une hypothèse provisoire. Le travail récent de M. Varitchac sur l'*Ascoidea* paraît cependant favorable à mon hypothèse.

II. — RECHERCHES SUR LE *SPERMOPHTHORA GOSSYPII* ET SUR LA PHYLOGÉNIE DES ASCOMYCÈTES

A. — CYTOLOGIE ET SEXUALITÉ DU *SPERMOPHTHORA GOSSYPII* [199, 223, 228].

Ashby et Nowell ont isolé des graines de Cotonnier atteintes de stigmatomycose, en même temps que les espèces précédentes (p. 34), un Champignon très curieux intermédiaire entre les Siphomycètes et les Ascomycètes et qu'ils ont désigné sous le nom de *Spermophthora Gossypii*. Les auteurs n'ont consacré à ce Champignon qu'une courte description et n'ayant pas étudié sa cytologie ne se sont pas prononcé sur la place qu'il doit occuper dans la classification. En raison de ses caractères tout à fait spéciaux, il m'a paru utile de reprendre l'étude de ce Champignon. Mes recherches sur le *Spermophthora* m'ont permis de démontrer, dans ce Champignon, l'existence d'une sexualité et de le rattacher aux Ascomycètes.

Le *Spermophthora* végète facilement sur la plupart des milieux solides sous forme d'un duvet blanc. Il se présente sous l'aspect d'un mycélium dépourvu de toute cloison tout à fait semblable à celui d'un Siphomycète et qui se ramifie par dichotomie. Le cytoplasme renferme de nombreux cristalloïdes de protéine, analogues à ceux des Mucoracées. Les filaments ont une tendance à s'allonger rapidement par leur extrémité, tandis que les parties plus âgées dégénèrent. Certaines régions âgées des filaments dont le contenu reste encore vivant s'isolent par des cloisons transversales pour former des chlamydospores, tandis que tout le reste du filament meurt. Les filaments forment également d'assez nombreuses conidies-levures, mais celles-ci ne se séparent jamais des filaments qui leur ont donné naissance et dégénèrent en même temps que ceux-ci. Ce sont des conidies-levures abortives.

Très rapidement, le Champignon donne naissance à des gamétanges : ceux-ci apparaissent un peu au-dessous de l'extrémité des filaments sous forme de renflements dont la forme contournée rappelle l'ascogone des Ascomycètes (fig. 22 : 1). Ces renflements se délimitent bientôt par deux cloisons transversales, dont l'une supérieure sépare un court article correspondant à l'extrémité du filament et qui surmonte le gamétange. Cet article qui cesse de croître, et ne tarde pas à dégénérer, pourrait être comparé au trichogyne qui termine l'ascogone de certains Ascomycètes. Dès leur origine, ces gamétanges renferment de 5 à 8 noyaux qui paraissent subir deux

mitoses successives. Celles-ci s'effectuent par un processus analogue à celui que j'ai décrit dans l'asque du *Schizosaccharomyces octosporus* et qui se rattache à la mésomitose (fig. **22** : **3**). Les mitoses achevées, les noyaux se placent dans un sporoplasme très chromophile qui se différencie au milieu du renflement, tout le reste étant occupé par un épiplasme chargé de produits de réserve (métachromatine, graisses, glycogène, cristalloïdes de protéine). Bientôt, le sporoplasme se découpe en nombreux filaments qui prennent l'aspect de spores fusiformes et qui représentent les gamètes (fig **22** : **4** et **5**). Celles-ci paraissent se former au nombre de **16** à **40**, dans chaque gamétange.

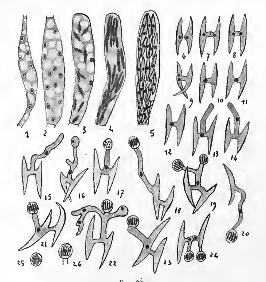


FIG. **22**.

Sexualité du *Spermophthora Gossypii* : **1** et **2**, Jeunes gamétanges. — **3**, *Id*. Avec noyaux en voie de mitose. — **4**, Formation des gamètes. — **5**, Gamétange mûr — **6** à **12**, Copulation des gamètes. — **13** à **15**. Début de la germination de la zygospore en un sporophyte. — **16**, Sporophyte en voie de former un asque ; l'asque n'a encore qu'un seul noyau. — **17**. *Id*. Ici l'asque renferme 8 noyaux. — **18** à **23**, *Id*. Les asques sont formés et renferment des ascospores uniformément colorées en noir. — **20** et **24**, Zygospores ayant germé parthénogénétiquement. — **25** et **26**, Deux asques achevés dans lesquels, par suite d'une plus forte différenciation, le noyau des ascospores est visible ; dans la figure **25**, les ascospores sont vues de face (Fixation au liquide de Bouin et coloration à l'hématoxyline ferrique).

Les gamètes croissent bientôt en absorbant l'épiplasme, puis la paroi du gamétange se déchire vers le milieu mettant en liberté les gamètes. Ceux-ci ont la forme de

fuseaux et sont uninucléés ; leur membrane présente, sur l'une de leur face, un épaississement sous forme d'une arête saillante qui occupe la moitié de la longueur du gamète. Cette arête se colore par le rouge de ruthénium et paraît constituée par des composés pectiques.

Les gamètes d'un même gamétange, et parfois même avant la déhiscence du gamétange, s'anastomosent deux à deux par un canal; puis leurs noyaux se fusionnent tantôt au milieu de ce canal (isogamie), tantôt dans l'intérieur de l'un des gamètes (tendance à l'hétérogamie) (fig. 22 : 7 à 12). La zygospore qui résulte de cette copulation germe immédiatement en produisant un court mycélium secondaire ou sporophyte souvent cloisonné et constitué par des articles uninucléés dont ceux qui occupent les extrémités des rameaux se renflent et se transforment en asques typiques à 8 ascospores, en forme de bâtonnet, terminés à leurs deux extrémités par une petite pointe (fig. 22 : 13 à 23). La copulation est loin d'être générale et un très grand nombre de gamètes germent par parthénogénèse en produisant un sporophyte semblable à celui qui résulte de la germination de la zygospore et qui fournit des asques typiques (fig. 22 : 20 et 24). Le sporophyte offre un développement très inégal : tantôt il est très développé, tantôt il est réduit à un court filament qui se termine par un asque. Il peut même arriver, dans certains cas, que la zygospore donne directement naissance par bourgeonnement à un seul asque et que le sporophyte se trouve de ce fait presque supprimé.

Les ascospores transportées dans un milieu frais se gonflent et s'arrondissent pendant que la paroi de l'asque se résorbe, puis, tout en restant réunies au-dessus du filament qui portait l'asque, germent en produisant un mycélium primaire ou gamétophyte siphoné.

Dans les milieux liquides, ce Champignon se développe lentement au fond du vase en un mycélium stérile qui donne naissance généralement à une abondante production de callose. Celle-ci apparaît de place en place comme un bourrelet de la membrane qui s'accroît vers le centre et arrive à obstruer le filament sur une étendue parfois considérable. Cette production de callose, qu'on observe également dans les vieilles cultures sur milieux solides, est tout à fait semblable à ce que M. Mangin a décrit dans le mycélium des Péronosporacées.

B. — PHYLOGÉNIE DES ASCOMYCÈTES [224-228].

L'étude du *Spermophthora Gossypii* m'a conduit à aborder la question si controversée de la phylogénie des Ascomycètes.

On sait que les mycologues se partagent, pour ce qui concerne cette question, en deux écoles : les uns admettent que les Ascomycètes dérivent des Floridées, par l'intermédiaire des Laboulbéniacées ; les autres, avec Dangeard, supposent, au contraire, que les Ascomycètes ont pour ancêtres les Siphomycètes.

Le *Spermophthora* est sans nul doute un intermédiaire entre les Siphomycètes et les Ascomycètes et sa découverte apporte une confirmation à la théorie de Dangeard. Ce Champignon, en effet, présente, par son mycélium primaire, les caractères des Siphomycètes. Cependant il se rattache aux Ascomycètes par son mycélium secondaire et par ses asques. On peut donc le considérer comme un type très archaïque d'Ascomycètes intermédiaire entre les Siphomycètes et les Ascomycètes et ses caractères permettent de créer pour lui une famille spéciale que je propose de désigner sous le nom de Spermophthoracées qui doit se placer à l'origine des Ascomycètes. Rappelons que Dangeard admet que la reproduction sexuelle ancestrale des Siphomycètes et des Ascomycètes consistait en la copulation de gamètes formés dans des gamétanges. Par suite d'une modification survenue au cours de l'évolution, ce mode de sexualité se serait

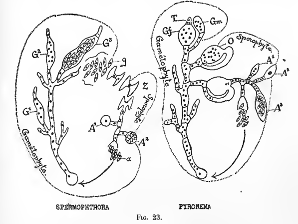


FIG. 23.
Schéma représentant comparativement le développement du *Spermophthora* et du *Pyronema*.

transformé en gamétangie, c'est-à-dire en la fusion des gamétanges eux-mêmes accompagnée de la fusion par paire des énergides mâles et femelles et aboutissant à la production d'un œuf composé. Enfin, dans les formes les plus évoluées, par suite d'une nouvelle modification dans la gamétangie, la fusion se serait effectuée entre un seul des noyaux mâles et un seul des noyaux femelles, tous les autres dégénérant. Ce dernier type de sexualité se serait conservé dans le *Dipodascus* et l'asque dérivé de la germination de l'œuf de ce Champignon correspondrait au sporange issu de la germination de l'œuf dans les Siphomycètes. Le *Spermophthora* réalise le mode de

sexualité ancestral supposé par Dangeard : c'est-à-dire la copulation de gamètes formés dans des gamétanges, et confirme la théorie de ce botaniste qui fait dériver ce mode de sexualité de la gamétangie des Siphomycètes et du *Dipodascus*. Quant au développement du *Spermophthora*, il paraît favorable à la théorie formulée par Claussen et soutenue en France par Killian, qui admet que les gamétanges des Ascomycètes supérieurs sont restés fonctionnels, mais que les noyaux mâles et femelles, au lieu de se fusionner deux à deux dans l'œuf, s'accouplent en dicaryon et que les hyphes ascogènes qui correspondent au sporophyte ou mycélium secondaire sont constitués, comme dans les Basidiomycètes (R. Maire), par des cellules à deux noyaux à un chromosome au lieu d'être formés par des cellules à un seul noyau. La fusion nucléaire serait ainsi reculée jusque dans les cellules-mères des asques, c'est-à-dire immédiatement avant la réduction chromatique.

Si nous admettons, d'une part, la théorie de Dangeard qui fait dériver la gamétangie de la copulation des gamètes issus de gamétanges et si nous adoptons, d'autre part, la théorie de Claussen relative à la sexualité des Ascomycètes supérieurs, il devient très facile d'établir une comparaison entre le *Spermophthora* et les Ascomycètes du type *Monascus* et *Pyronema*. Il suffit d'admettre que, dans le *Pyronema*, la gamétangie a fait place à la copulation des gamètes et que les noyaux mâles et femelles, au lieu de se fusionner comme dans le *Spermophthora*, s'accouplent seulement pour donner naissance à un sporophyte formé de cellules binucléées dont les noyaux ne se fusionnent que dans l'asque. On peut donc faire dériver tous les Ascomycètes supérieurs d'une forme voisine du *Spermophthora* (fig. 23).

Le *Dipodascus* considéré par Dangeard comme l'ancêtre des Ascomycètes diffère du *Spermophthora* et des Ascomycètes supérieurs par son absence de sporophyte. Il

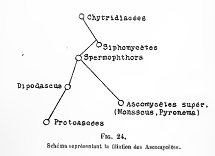


FIG. 24.
Schéma représentant la filiation des Ascomycètes.

présente, d'autre part, par son mycélium formé d'articles et son mode de gamétangie, des caractères beaucoup plus évolués que le *Spermophthora*. On peut considérer le *Dipodascus* comme dérivé d'une forme semblable au *Spermophthora*, mais dans

laquelle le sporophyte aurait été supprimé. Ce rameau serait l'origine des Protoascées (Endomycétacées et Saccharomycétacées) dans lesquelles le gamétange aurait été transformé en gamète et dont l'évolution serait conforme à la théorie que j'ai formulée antérieurement relative à la phylogénie des Levures (voir p. 26). L'étude du *Spermophthora* fournit des arguments en faveur de cette opinion, car, dans ce Champignon, le sporophyte offre une grande inégalité de développement et il y a des cas où il se trouve presque supprimé (fig. 24).

L'étude du *Spermophthora* jette ainsi une vive lumière sur la question si controversée de la phylogénie des Ascomycètes.

III. — RECHERCHES SUR LES ASCOMYCÈTES SUPÉRIEURS

Ces recherches ont eu comme point de départ l'étude des corpuscules métachromatiques. Les observations que j'avais faites de ces corps dans les Levures et l'importance qu'ils paraissaient y avoir, m'avaient donné l'idée de rechercher leur présence dans les Ascomycètes supérieurs et d'étudier leur évolution dans l'épiplasme. En outre, ces travaux m'ont donné l'occasion d'apporter une importante contribution à l'étude des mitoses de l'asque.

1° *Etude des corpuscules métachromatiques et de l'épiplasme* [**13, 14, 15, 16, 19**]. — L'épiplasme des Ascomycètes n'était guère connu que par les recherches purement chimiques de Errerra, qui n'ont eu, comme objet, que la mise en évidence du glycogène. Il était donc intéressant d'entreprendre une étude cytologique de l'épiplasme. Mes recherches ont démontré que l'épiplasme de la plupart des Ascomycètes (*Ascobolus marginatus*, *Guilliermondia saccaboloides*[1], *Peziza coccinea*, *Pustularia vesiculosa*, *Aleuria cerea*, *abietina* et *amplissima*, *Acetabula vulgaris*, *Peziza tuberosa*, *Catinus*, et *venosa*, *Exoascus deformans*, *Taphrina aurea*, *Bulgaria inquinans*, *Helvella crispa*, *elastica* et *sulcata*, *Ascophanus aurora*) renferme une quantité considérable de corpuscules métachromatiques qui présentent les mêmes caractères histochimiques que ceux que j'ai mis en évidence dans les Levures. Ces corpuscules apparaissent déjà dans les stades les plus jeunes du développement, dans de petites vacuoles qui occupent les deux pôles de l'asque (fig. 25 : I, A). Ils augmentent considérablement de nombre (fig. 25 : B et C) pendant le développement de l'asque. Lorsque les ascospores sont délimitées, l'épiplasme apparaît chargé de corpuscules métachromatiques (fig. 25 : D), de glycogène et souvent aussi de globules graisseux. Les corpuscules métachromatiques forment alors comme une poussière de fines granulations réparties dans toutes les petites vacuoles de l'épiplasme qui offre une structure alvéolaire. Pendant la croissance des ascospores, ces corpuscules s'accollent à la paroi de celles-ci, puis diminuent peu à peu de nombre pour disparaître complètement, lorsque les ascospores sont parvenues à

[1] Cette étude m'a donné l'occasion de trouver, sur du crottin de cheval, un nouvel Ascomycète de la famille des Myriangiacées, pour laquelle M. Boudier a créé le genre *Guilliermondia saccaboloides* (Boudier, Sur un nouveau genre et une nouvelle espèce de Myriangiacées, le *Guilliermondia saccaboloides*, *Bull. Soc. Mycol.*, 1903).

leur maturité (fig. 25 : E). Le glycogène suit la même évolution. Les corpuscules métachromatiques se comportent donc exactement comme dans l'asque des Levures : ils servent, avec le glycogène, d'aliments pour les ascospores et peuvent donc être considérés comme des produits de réserve. Les ascospores parvenues à maturation renferment des corpuscules métachromatiques et du glycogène.

Quelques espèces cependant ne paraissent pas renfermer de corpuscules métachromatiques dans leur épiplasme *(Otidea leporina* et *onotica*, *Hypocopra fumicola*, *Geoglossum viride*, *Ciboria echinophila)*; par contre elles sont extrêmement riches en globules graisseux. Ces globules graisseux sont absorbés par les ascospores pendant leur croissance et les ascospores parvenues à maturité renferment chacune un gros globule graisseux. Ce sont surtout les espèces dépourvues de corpuscules métachromatiques qui sont les plus riches en graisse. Néanmoins les deux productions peuvent coexister abondam-

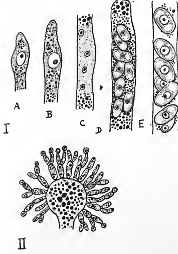


FIG. 23. — I. Evolution des corpuscules métachromatiques dans l'asque d'*Aleuria cerea*.

On voit que ces corps augmentent pendant le développement de l'asque, s'accumulent dans l'épiplasme et sont absorbés par les ascospores pendant leur croissance (D et E).

II. Conidiophore de *Sterigmatocystis nigra*.

On y voit de nombreux corpuscules métachromatiques.

ment ; c'est le cas des Helvelles *(Helvella sulcata, crispa* et *elastica)*, dans lesquelles on observe à la fois du glycogène et une quantité considérable de corpuscules métachromatiques et de globules graisseux. Le glycogène se rencontre dans toutes les espèces, sauf dans *Peziza Catinus* et *Elaphomyces granulatus*. Dans quelques espèces *(Peziza Catinus, Acetabula leucomelas, Galactinia succosa)*, j'ai observé, autour du noyau, des granulations sidérophiles que j'ai désignées sous le nom de *grains basophiles* et dont le rôle n'a pas été bien précisé ; ces granulations paraissent disparaître au début de la première mitose. En dehors de ces différents produits, on remarque dans *Pustularia vesiculosa, Peziza venosa* et dans les espèces du genre *Aleuria*, à la partie supérieure de chaque asque, un anneau d'amyloïde. C'est au niveau de cet anneau d'amyloïde que s'effectue

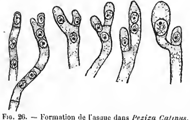


Fig. 26. — Formation de l'asque dans *Peziza Catinus*.

l'ouverture de l'opercule de l'asque, qui met en liberté les ascospores. Mes observations me conduisent donc à admettre que, contrairement à l'opinion admise, cet anneau d'amyloïde ne constitue pas une réserve, mais correspond à une dégénérescence de la paroi. Il persiste d'ailleurs après la sortie des ascospores.

Mes recherches [**14**] m'ont permis de constater en outre l'extrême abondance des corpuscules métachromatiques dans les conidiophores de *Penicillium glaucum, Aspergillus variabilis, Sterigmatocystis nigra*. Ces corpuscules métachromatiques se transmettent dans les conidies (fig. 25 : H).

J'ai également [**12**] fait une étude cytologique, en collaboration avec M. Beauverie, du *Botrytis cinerea*, qui nous a permis de retrouver la structure observée dans d'autres Champignons et d'obtenir de nouvelles preuves en faveur du rôle de matière de réserve des corpuscules métachromatiques, en particulier dans l'accumulation de ces corpuscules dans les sclérotes.

Tous ces faits tendent donc à demontrer le rôle de réserve des corpuscules métachromatiques.

2° *Formation des asques* [**16, 19, 20, 21, 25**] — Mon étude sur l'épiplasme m'a donné l'occasion d'apporter une contribution à l'étude du mode de formation des asques.

Dans la majorité des espèces que j'ai observées (*Aleuria cerea*, *olivea* et *amplissima*, *Ascobolus marginatus*, *Guilliermondia saccaboloides*, *Helvella sulcata*, *elastica* et *crispa*, *Ciboria echinophila*, *Otidea onotica*, *Bulgaria inquinans*), les asques se forment aux dépens de crochets, selon le processus classique décrit par Dangeard. Au contraire, dans *Acetabula leucomelas*, l'asque dérive de la cellule terminale d'un filament composé d'une file de cellules binucléées, selon le procédé indiqué par Maire et vérifié par moi dans *Galactinia succosa*. Enfin j'ai décrit, pour la première fois, un mode nouveau de formation de l'asque dans *Peziza Catinus* [**21**, **25**]. Ici, les asques naissent aux dépens de filaments rectilignes dont la cellule terminale est uninucléée et la subterminale binucléée ; cette dernière donne naissance à un rameau latéral dans lequel pénètrent les deux noyaux et qui se développe en asque après fusion nucléaire (fig. 26). Ce processus a été retrouvé depuis, par Harper, dans *Phyllactinia Corylea*.

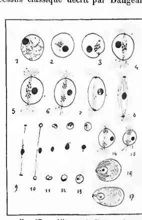


Fig. 27. — Mitoses de l'asque dans *Pustularia vesiculosa*.

1, Noyau à l'état de repos, avant la première mitose. — 2, Début de la prophase de la première mitose : apparition des chromosomes — 3, Formation du fuseau achromatique. — 4, Plaque équatoriale. — 5, Fin de la métaphase. — 6, Anaphase. — 7, Début de la télophase — 8 et 9, Télophase : la membrane nucléaire s'est résorbée. — 10 à 13, Formation de deux noyaux-fils. Le fuseau achromatique se résorbe et le nucléole du noyau-père subsiste longtemps dans le cytoplasme, entre les deux noyaux-fils. — 14, Anaphase de la seconde mitose. — 15, Anaphase de la troisième mitose. — 16 et 17, Délimitation de l'ascospore par recourbement de l'aster autour du centrosome.

3° *Mitoses de l'asque, évolution nucléaire et formation des ascospores* [**16**, **19**, **20**, **21**, **24**, **25**, **58**, **72**]. — Les mitoses de l'asque observées pour la première fois par Gjurasin n'étaient bien connues, au moment où j'ai commencé ces recherches, que par quelques observations encore incomplètes de Harper. Au cours de mes recherches, elles ont été l'objet de travaux simultanés de Dangeard et Maire, puis de Harper, de Fraser, Fraser et Welsford, Fraser et Brooks et Carruthers.

Mes recherches ont porté sur plusieurs espèces : *Otidea onotica*, *Pustularia vesiculosa*, *Galactinia succosa*, *Peziza Catinus* et *Hymaria rutilans*.

Dans toutes ces espèces (fig. 27), les mitoses suivent les processus généraux décrits par Harper : elles se passent tout entières à l'intérieur de la membrane nucléaire (fig. 27 et 28). Elles ont donc un caractère primitif et correspondent à ce que certains auteurs désignent sous le nom de mésomitose. On constate, au début de la première mitose, un stade synapsis, bien caractérisé, pendant lequel le peloton chromatique se condense sur un côté du noyau ; puis à ce stade succède une phase où les chromosomes apparaissent groupés au voisinage du nucléole, pendant que le réseau de linine se résorbe (fig. 27 : 2). Un centrosome, peut-être d'origine nucléaire, apparaît entouré d'un aster

(fig. 27 : 6). Celui-ci se dédouble ainsi que son aster (fig. 27 : 7) et les deux centrosomes fils viennent se placer aux deux pôles du noyau avec chacun un demi-aster ; ceci fait, les fibres des demi-asters viennent s'appliquer contre les chromosomes et constituent, en se soudant, un fuseau achromatique longeant le noyau. Au milieu de ce fuseau, les chromosomes se rangent en plaque équatoriale (fig. 27 : 4). En même temps, un nouvel aster se constitue aux dépens du cytoplasme autour des deux centrosomes. A la métaphase (fig. 27 : 5), les chromosomes se dédoublent, puis les chromosomes résultant de cette division se répartissent entre les deux pôles (fig. 27 : 6). A la télophase, ils se réunissent en une masse confuse (fig. 27 : 7). C'est à ce moment seulement que la membrane nucléaire se résorbe (fig. 27 : 8) : le fuseau achromatique s'allonge, puis les deux noyaux-fils se constituent pendant que le fuseau achromatique se résorbe (fig. 27 : 9 à 13). Le nucléole persiste pendant toute la durée du phénomène et se retrouve après la formation des noyaux-fils dans le cytoplasme où il ne se résorbe que lentement.

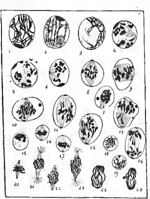


Fig. 28.

Mitoses de l'asque dans *Humaria rutilans*.

1, Noyau dans les stades précédant la première mitose. — 2, Fissuration du peloton chromatique. — 3, Synapsie. — 4 et 5, Apparition des chromosomes. — 6, Apparition du centrosome entouré de son aster. — 7, Division du centrosome et dédoublement de l'aster. — 8, Plaque équatoriale. — 9 à 13, Métaphase. — 14, Anaphase — 15, Début de la prophase de la seconde mitose. — 16 et 17, Plaque équatoriale de la seconde mitose. — 18 et 19, Spirème de la troisième mitose. — 20 et 21, Plaque équatoriale — 23, Métaphase. — 24 et 25, Anaphase

La seconde et la troisième mitoses s'effectuent selon les mêmes processus, avec cette différence qu'elles n'offrent pas de stades synapsis.

Les deux premières mitoses s'opèrent selon la direction de l'axe longitudinal de l'asque et les deux autres, perpendiculairement à cet axe. Le nombre des chromosomes est le même au cours des trois mitoses successives de l'asque. Ce nombre est de 8 dans *Aleuria cerea*, *Otidea onotica*, *Pustularia vesiculosa* et *Galactinia succosa* ; il est de 16 dans *Peziza Catinus* et *Humaria rutilans*.

Dans la plupart des espèces, les chromosomes apparaissent comme de très petits grains, et il n'est pas possible d'observer leur mode de partage. Au contraire, dans *Peziza Catinus*, et surtout dans *Humaria rutilans*, les chromosomes sont beaucoup plus gros et permettent de préciser les détails de leur division. Les mitoses d'*Humaria rutilans*, que j'ai été le premier à décrire, constituent, par la forte dimension de leurs chromosomes, le plus bel exemple de mitose qui ait été signalé jusqu'ici dans les Champignons, et se rapprochent tout à fait, à ce point de vue, des mitoses classiques des Phanérogames (fig. 28).

Dans ces deux dernières espèces, la prophase débute par un stade où le peloton

chromatique apparaît fissuré (fig. 28 : 2). La fissuration cesse ensuite d'être visible et le noyau parvenu au stade synapsis (fig. 28 : 3) présente une série de boucles paraissant correspondre aux chromosomes. Vient ensuite un spirème qui aboutit à un stade où les 16 chromosomes apparaissent disséminés dans le nucléoplasme sous forme de boucles bien caractérisées, paraissant représenter des chromosomes bivalents (fig. 28 : 4 et 5). Un peu avant la plaque équatoriale (fig. 28 : 9 à 13), ces boucles se contractent tout en conservant leur aspect; puis, à la métaphase (fig. 28 : 14), les deux branches qui constituent les boucles semblent se séparer simplement, donnant **32** chromosomes monovalents qui se répartissent entre les deux pôles. Là, les chromosomes prennent l'aspect de V, comme si une division longitudinale incomplète se produisait à ce moment. A la seconde mitose, on constate de nouveau 16 chromosomes en forme de V dont les deux branches se séparent à la métaphase (fig. 28 : 15 à 17).

Mes recherches établissent donc avec la plus grande précision que le nombre des chromosomes varie dans les Ascomycètes d'une espèce à l'autre, contrairement à l'opinion qui admettait que le nombre des chromosomes était de 4 dans tous les Ascomycètes. Ce résultat a été confirmé ensuite par Harper, puis par Fraser et ses collaborateurs. En outre, mes recherches démontrent que les mitoses de l'asque offrent les caractères de divisions réductrices. La première est hétérotypique, la seconde homotypique et la troisième typique. Les processus de dédoublement des chromosomes paraissent conformes au schéma de Farmer et Moore. Il n'y a pas de protochromosomes à la prophase de la première mitose, contrairement à l'opinion de certains auteurs, et les chromosomes apparaissent directement.

Un des résultats les plus importants de mes recherches [**58**, **72**] est la démonstration que, contrairement à l'opinion de Fraser et Welsford, Fraser et Brooks, et Carruthers [1], le nombre des chromosomes reste constant pendant les trois mitoses successives. Les auteurs anglais admettaient, au contraire, l'existence, au cours de ces divisions, de deux réductions chromatiques : l'une s'effectuant à la première mitose et la seconde s'opérant, selon les espèces, pendant la deuxième ou troisième mitose. Ce fait bien établi est donc peu favorable à la théorie de Harper qui admet l'existence, dans le cycle évolutif des Ascomycètes, de deux fusions nucléaires, et, au contraire, s'accorde avec les théories qui admettent une seule fusion nucléaire (Théories de Dangeard ou de Claussen.)

Mes recherches m'ont permis en même temps de vérifier pour la première fois les processus décrits par Harper relativement à la délimitation des ascospores par les asters [**19**, **20**, **21**]. Dans toutes les espèces observées, les noyaux résultant de la troisième mitose restent unis par un petit bec à leur centrosome respectif entouré de l'aster. C'est par un recourbement de l'aster en forme de parapluie que se délimitent les ascospores (fig. 27 : 16 et 17). Ce processus, que j'ai vérifié pour la première fois, a été ensuite retrouvé par un grand nombre d'auteurs.

[1] Voici ce que conclut Tischler en analysant mes travaux : « Les résultats de Carruthers nous paraissent très douteux surtout si on les compare au beau travail de Guilliermond » (*Allg. Anat. Bot. Litter. der Zelle*, 1910).

Ces recherches sont devenues classiques et les figures de mes mémoires sont actuellement reproduites dans tous les Traités de Botanique (*Traité de Botanique médicale* de Beille, *Technique mycologique* de F. Moreau ; *Handbuch der Pflanzanatomie* de Linsbauer (Borntræger, Berlin, 1921). Dans ce dernier ouvrage, Tischler fait une large part à mes travaux (T. II, *Allgemeine Pflanzenkaryologie*, p. 273 et 274, 382 et 383).

IV. — RECHERCHES SUR LA CYTOLOGIE DES CYANOPHYCÉES ET DES BACTÉRIES

La question de la structure des Cyanophycées et des Bactéries présentait une grande importance au point de vue de la Biologie générale. En effet, ces deux groupes étaient, au moment de mes recherches, les seuls organismes chez lesquels on n'avait pu encore différencier un noyau d'une manière évidente. Il était donc du plus haut intérêt de savoir si ces organismes renferment un noyau ou si, comme quelques-uns le prétendaient alors, ils seraient dépourvus de tout élément nucléaire et feraient en cela exception à la règle partout ailleurs constatée. C'est ce problème que j'ai essayé de résoudre dans cette série de recherches. J'ajoute que la solution de cette question, dans les Bactéries, pourrait apporter de précieux renseignements sur la connaissance de ce groupe, peut-être hétérogène, dont la position systématique et la phylogénie restent absolument inconnues.

A. — STRUCTURE ET NOYAU DES CYANOPHYCÉES [**28, 29, 30, 32, 202, 205, 211**].

La question de la structure des Cyanophycées était très discutée depuis fort longtemps. Bütschli avait observé, dans les Cyanophycées, un *corps central*, formé d'un cytoplasme alvéolaire, se distinguant du reste de la cellule par sa chromaticité plus accentuée, ainsi que par la présence dans sa trame de nombreuses granulations très chromophiles, désignées sous le nom de *grains rouges*, en raison de leur métachromasie (coloration rouge avec la plupart des teintures bleues). Ce corps central occupe la plus grande partie de la cellule, le reste étant réduit à une mince couche corticale de cytoplasme peu chromophile, à structure plus finement alvéolaire. Bütschli assimile le corps central à un noyau de structure primitive dont les *grains rouges* représenteraient les grains de chromatine. Pour Massart et Zacharias, le corps central ne représente, au contraire, qu'une partie de la cellule où s'accumulent des produits de réserve (grains rouges). Au moment où j'ai commencé mes recherches, cette opinion venait d'être

précisée par A. Fischer pour qui le corps central correspondait au cytoplasme proprement dit et la zone corticale à un chromatophore qui entourerait la cellule ; les grains rouges de Bütschli seraient simplement des produits de réserve accumulés dans le cytoplasme.

L'étude de diverses espèces appartenant à des groupes différents : Oscillariées, Nostocacées, Rivulariées, Scytonémées, m'a permis de constater partout la même structure. La cellule des Cyanophycées possède une mince zone de cytoplasme, qui ren-

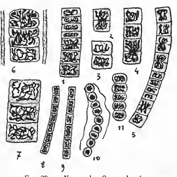


Fig. 29. — Noyau des Cyanophycées.

1 à 5, *Calothrix pulvinata*. — 6 et 7, *Scytonema circinnatum*. — 8 et 9, *Microcoleus ethnoplastes*. — 10, *Nostoc verrucosum*. — 11, *Nostoc species*. — Partout on constate la présence d'un corps central, correspondant au noyau et constitué par un réseau chromatique situé dans un nucléoplasme hyalin. — Dans les figures 1, 2, 4, 5, 6 et 10, on observe des stades de division du corps central.

ferme les pigments à l'état de dissolution et ne possède pas les caractères d'un chromatophore. Le cytoplasme montre souvent, sur les côtés latéraux de la cellule ou tout près des cloisons transversales, de petits grains sidérophiles (*Cyanophycinkörper* de certains auteurs).

La majeure partie de la cellule est occupée par le corps central de Bütschli : celui-ci présente tous les caractères d'un noyau de structure primitive (fig. 29). Il est constitué par un nucléoplasme incolore, non limité du cytoplasme par une membrane : dans ce nucléoplasme se trouve un réseau chromatique tout à fait semblable au réseau chromatique d'un noyau. On constate, en outre, dans le nucléoplasme, des corpuscules métachromatiques qui correspondent aux grains rouges de Bütschli, et parfois aussi de grosses sphères sidérophiles qui paraissent être de nature protéique. Ces dernières, ainsi que les corpuscules métachromatiques, semblent être des produits de réserve.

Les cellules de Cyanophycées paraissent être presque constamment en voie de division, et chaque cellule possède en son milieu une ébauche de cloison transversale, en

forme de cercle : celle-ci apparaît déjà dans les deux moitiés des cellules en voie de division, avant la fermeture complète de la cloison transversale destinée à les séparer. Pendant la division cellulaire, le réseau chromatique subit une certaine orientation, les filaments se disposent en séries parallèles, puis le réseau s'étrangle en son milieu pendant le cloisonnement, de telle sorte que chacune des cellules-filles reçoit une moitié du corps central de la cellule-mère. Le réseau chromatique prend ensuite, dans les cellules-filles, un aspect qui rappelle un peu un spirème. Cette division du corps central est donc très simple, mais elle rappelle à certains égards les mitoses (fig. 29 : 1, 2, 4, 5, 6 et 10).

Il résulte donc de mes recherches que le corps central de Bütschli représente un noyau à l'état primitif. Il ne diffère d'un véritable noyau que par sa dimension exagérée par rapport à la cellule, ainsi que par son absence de membrane et de nucléole. Il se réduit donc à un réseau chromatique dans un nucléoplasme. Ce noyau présente, en outre, la particularité d'accumuler dans son nucléoplasme une grande abondance de produits de réserve, entre autres, des corpuscules métachromatiques, pris à tort par Bütschli pour des grains de chromatine. Le réseau présente tous les caractères histochimiques de la chromatine et se divise par une sorte de procédé intermédiaire entre l'amitose et la mitose. Sa nature ne nous paraît donc pas contestable.

Bien que mes recherches aient été confirmées depuis par Wager, Philips, Gardner, M. et Mme F. Moreau, Baumgärtel, Miss Acton, Haupt et surtout Dehorne et que la grande majorité des Botanistes se soit ralliée à mon interprétation sur la structure des Cyanophycées, la question de la signification du corps central a été remise en cause par les récentes et presque simultanées recherches d'Alexeieff et de S. Prat. Le premier considère les Cyanophycées comme dépourvues de noyau et admet que le corps central représente un chondriome condensé au milieu de la cellule. Quant à Prat, il s'attache à démontrer que le corps central n'est pas une formation constante de la cellule et ne peut par conséquent être regardé comme un noyau. En outre, une obscurité, qui ne paraît pas avoir attiré l'attention de ces auteurs, subsistait : c'est la localisation des corpuscules métachromatiques dans le corps central. On comprend difficilement cette localisation aujourd'hui qu'il est démontré que ces corps résultent partout ailleurs de la précipitation, sous l'influence des colorants vitaux et des fixateurs, d'une substance se trouvant normalement à l'état de solution colloïdale dans les vacuoles (voir p. 106). La localisation des corpuscules métachromatiques dans le corps central était donc de nature à jeter un doute sur la signification nucléaire de cette formation et l'on pouvait se demander si elle ne correspondrait pas plutôt à une vacuole. Ce sont ces considérations qui m'ont amené, dans ces dernières années, à reprendre l'étude de cette question en m'attachant surtout à l'étude vitale de ces Algues.

Mes recherches (**202**, **205** et **211**) ont porté sur un certain nombre d'espèces : *Phormidium favosum*, *Phormidium Retzii*, *Oscillatoria formosa* et *ornata*, *Schizothrix Mulleri*, *Cylindrospermum moniliforme*, *Nostoc muscorum*. Sur le vivant, ces Algues montrent une couche corticale contenant le pigment à l'état diffus et un corps central hyalin. La couche corticale renferme souvent des grains de cyanophycine et le

comportement de ces corps dans le *Cylindrospermum*, où ils s'accumulent dans les epores, semblent démontrer qu'ils représentent une substance de réserve. Lee colorations vitales au rouge neutre font apparaître dans la couche corticale, autour du corps central, un vacuome constitué par de petites vacuoles généralement rondes, parfois filamenteuses, renfermant une métachromatine très condensée et qui se colorent d'une

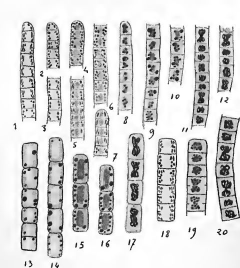


FIG. 30.

Structure des Cyanophycées : 1 à 5, trichomes de *Phormidium favosum* colorés vitalement par le bleu de méthylène ; on y voit, dans la couche corticale, de petites vacuoles remplies de métachromatine, rondes ou parfois allongées. — 6 à 9, *Id.* colorés postvitalement, le corps central prend une teinte diffuse. — 10 à 12, *Id.* fixés par le formol et colorés par le bleu de méthylène : la fixation a déterminé la précipitation de la métachromatine des vacuoles sous forme de corpuscules qui ont émigré dans le corps central. — 13 et 14, Trichomes de *Phormidium favosum* fixés par le liquide de Perenyi et colorés par l'hématoxyline ferrique, montrant le corps central et sa division. — 15 et 16, Trichomes de *Phormidium Retzii* colorés vitalement par le bleu de méthylène ; les corpuscules métachromatiques sont toujours localisés dans la couche corticale. — 17 et 18, *Id.* fixés par le formol et colorés par le bleu de méthylène ; corpuscules métachromatiques situés dans la couche corticale. — 20 et 21, Trichomes d' *Oscillatoria ornata* colorés vitalement par le bleu de méthylène. — 19 et 22, *Id.* fixés par le liquide de Perenyi et colorés par l'hématoxyline ferrique.

manière homogène et assez intense (fig. 30, 1 à 4). Le bleu de méthylène et le bleu de Crésyl donnent à ces vacuoles une teinte métachromatique rouge. L'observation, à l'aide de ces derniers colorants, est très instructive. Au début, le vacuome

apparaît seul coloré, mais, au bout d'un certain temps, les cellules meurent et la coloration devient postvitale : on observe alors des cellules dont le corps central prend un teinte bleu pâle qui tranche sur les vacuoles teintes en rouge et localisées dans la couche corticale (fig. 30 : 6 à 7). Dans une phase ultérieure, la coloration du corps central s'accentue, les vacuoles se décolorent et apparaissent comme de petits espaces vides, dans la couche corticale, mais, en même temps, on voit apparaître, dans le corps central ou à sa périphérie, des corpuscules métachromatiques fortement colorés en rouge foncé qui résultent de la précipitation du contenu des vacuoles et de l'émigration des précipités dans le corps central, reproduisant ainsi des figures analogues à celles que donnent les colorations au bleu de Crésyl après fixation. Le phénomène est facile à observer sous le microscope lorsqu'on traite par une solution d'acide sulfurique à 1 pour 100 des cellules vivantes dont le vacuome est coloré par le bleu de méthylène : les vacuoles se décolorent aussitôt et l'on voit en même temps apparaître, dans le corps central, des corpuscules métachromatiques fortement colorés. Ainsi mes recherches ont mis en évidence, dans les Cyanophycées, l'existence d'un vacuome bien caractérisé, localisé dans la couche corticale. Elles ont établi, en outre, que les corpuscules métachromatiques qui se trouvent situés dans le corps central après fixation résultent simplement de la précipitation du contenu de ces vacuoles et de l'émigration des précipités dans le corps central. Il s'agit là d'un phénomène analogue à celui qu'on observe dans les Champignons où les corpuscules métachromatiques formés sous l'influence des colorants vitaux peuvent sortir de la vacuole et se déposer dans le cytoplasme (voir p. 121).

Les colorations au bleu de Crésyl après fixation font apparaître en général les corpuscules métachromatiques dans le corps central ou à sa périphérie (fig. 30 : 10 et 12), mais il y a des exceptions et j'ai observé une espèce (*Phormidium Retzii*) dans laquelle les corpuscules métachromatiques restent constamment localisés, même après fixation, dans la couche corticale (fig. 30 : 15 à 18).

Quant au corps central, il paraît constitué, après coloration à l'hématoxyline ferrique, par une sorte de peloton chromatique fortement coloré, absolument constant et qui se divise à chaque partage cellulaire. Sa division, en quelque sorte intermédiaire entre l'amitose et la mitose, consiste en une certaine orientation parallèle suivant la longueur de la cellule des filaments du peloton, puis en une constriction médiane donnant au corps central l'aspect d'un haltère (fig. 30 : 13, 14, 19 et 22). Le phénomène se termine par une rupture de la partie effilée de l'haltère produite par la fermeture de la cloison transversale qui apparaît d'abord à la périphérie sous forme d'un anneau s'accroissant vers le centre. Cette division se borne donc, en somme, au sectionnement transversal du peloton chromatique et peut être rapprochée de l'haplomitose des Eugléniens et des Infusoires ciliées. Le corps central n'a aucun des caractères histochimiques des mitochondries et l'on ne peut le considérer, avec Alexeieff, comme un chondriome. Etant donné qu'il offre tous les caractères d'un noyau, on est obligé d'admettre qu'il correspond à un noyau d'organisation simple et dépourvu de membrane. Peut-être faut-il expliquer l'absence de membrane par le fait que les cellules

des Cyanophycées sont presque constamment en voie de partage et que leur noyau ne paraît jamais être à l'état de repos.

Mes recherches ont montré, en outre, que les Cyanophycées ne renferment ni mitochondries, ni plastes et, à cet égard, font exception à la règle. Pour expliquer l'absence de ces constituants du cytoplasme, nous avons émis l'hypothèse que la substance mitochondriale serait mélangée dans le cytoplasme qui, d'ailleurs, paraît riche en lipoïdes diffus.

B. — CYTOLOGIE DES BACTÉRIES

[**8, 26, 31, 34, 38, 40, 50, 61, 65, 205**]

1° *Structure générale.* — Aucun problème de cytologie n'a été aussi discuté que celui de la structure des Bactéries. Mais l'extrême petitesse de leurs cellules n'a pas permis d'aboutir jusqu'ici à une solution définitive. Les auteurs qui l'ont abordé, et au nombre desquels se rangent des Maîtres de la Cytologie, sont arrivés aux interprétations les plus contradictoires.

Les uns nient l'existence du noyau ou de son équivalent (A. Fischer, Massart, Migula), beaucoup admettent la présence du noyau plus ou moins mélangé avec le cytoplasme (Bütschli, Schaudinn) ; certains enfin, comme Arthur Meyer et Vejdowsky, prétendent avoir mis en évidence un noyau typique.

Mon étude a porté sur un certain nombre de bacilles endosporés : *Bacillus megatherium*, *B. radicosus*, *B. mycoides*, *B. asterosporus*, et *B. alvei* et sur les *Spirillum volutans*, dont les dimensions permettent l'observation cytologique [**34, 38, 40, 50, 65**].

Examinées au début de leur développement, ces espèces présentent un aspect homogène et se colorent uniformément, sans différenciation : ce qui semble s'expliquer par la densité du cytoplasme ou par un état particulier de la membrane. A ce stade, les cellules sont en voie d'actives divisions, et permettent d'observer la formation de leur cloison transversale (fig. **31** : **1**). Celle-ci apparaît d'abord sous forme de deux petits grains sidérophiles, situés de chaque côté de la cellule, au milieu. Ces grains s'accroissent vers le centre de la cellule et se soudent, constituant une cloison transversale qui, fixant d'abord énergiquement l'hématoxyline ferrique, ressemble un peu à un noyau, et a été décrite comme telle par certains auteurs.

Vers la huitième heure du développement, le cytoplasme se vacuolise, et les cellules montrent alors une belle structure alvéolaire. La trame renferme, dans ses nœuds, de petits grains fortement colorables ; ceux-ci fixent la plupart des colorants nucléaires et n'ont pas les caractères des corpuscules métachromatiques (fig. **31** : **2** et **3** et **8** à **11**). Il est donc permis de les considérer comme de nature chromatique.

Lors de la sporulation, il se forme à l'un des pôles de la cellule une petite masse ovale très colorable qui ressemble beaucoup à un noyau. Celle-ci, d'abord très petite,

grossit peu à peu et finalement se transforme en spore (fig. 31 : 4 à 7). La spore ne semble pas dériver de la condensation des grains chromatiques ou tout au moins ne dérive que d'une partie seulement de ces grains. Parvenue à maturité, la spore possède une membrane qui fait obstacle à la pénétration du colorant (fig. 31 : 7).

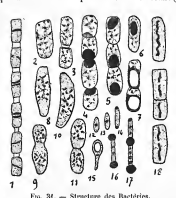


Fig. 31. — Structure des Bactéries.

1, *Bacillus mycoides*, au début du développement. On y observe la formation des cloisons transversales. — 2, *Id.*, après 8 heures : le cytoplasme a un aspect alveolaire el renferme des granulations chromatiques. — 4 à 6, Formation de l'ébauche de la spore. — 7, Spore entourée d'une membrane qui fait obstacle à la pénétration des colorants. — 8 à 11, *Bacillus radicosus*, au bout de 8 heures. — 12 à 14, *Bacillus asterosporus*, coloré par une méthode ne différenciant que les corpuscules métachromatiques. On y voit les corpuscules métachromatiques au milieu ou aux pôles de la cellule. — 15, *Id.*, avec spore : un corpuscule métachromatique s'observe en dehors de la spore. — 16 et 17, *Bacillus alvei*, avec des corpuscules métachromatique nombreux dont quelques-uns dépassent la largeur du bacille. — 18, Bacille de l'intestin l'*Echinocardium cordatum*, avec spirale chromatique.

A aucun stade du développement je n'ai observé la moindre trace d'un noyau. Les noyaux décrits par certains auteurs correspondent aux corpuscules métachromatiques ou aux figures de formation des cloisons transversales. L'hypothèse la plus vraisemblable est, à mon avis, de considérer les Bactéries, avec Schaudinn, comme renfermant de la chromatine plus ou moins mélangée au cytoplasme, différenciée parfois à l'état de grains, et se précipitant lors de la sporulation pour former la spore qui serait en majeure partie constituée par de la chromatine.

Je ne pense donc pas qu'il existe un noyau dans les Bactéries que j'ai étudiées : mais je me garderai de généraliser, car il est possible que, dans le groupe peut-être hétérogène des Bactéries, certaines espèces possèdent un noyau. Depuis mes recherches, la question de la structure des Bactéries n'a pas beaucoup progressé. Mon hypothèse n'a jamais été infirmée. Tout au contraire, les plus récentes recherches de Swellengrebel, Dobell, Pénau, etc., n'ont fait que la confirmer. Dans mes recherches, je n'ai pas trouvé de caractères qui puissent permettre de rapprocher les Bactéries des

Cyanophycées, et les affinités entre ces deux groupes de Végétaux inférieurs me paraissent très douteuses.

Cependant, dans des recherches un peu plus récentes [**61**, **65**], j'ai pu observer, dans quelques Bactéries (deux Bacilles et un Spirille) de l'intestin des *Echinocardium cordatum*, de Wimereux, des grains chromatiques orientés selon l'axe de la cellule en un filament spiralé, qui pourrait être regardé, à certains égards, comme un noyau rudimentaire semblable à celui décrit dans certaines Bactéries par Swellengrebel et Dobell (fig. 31 : 18).

De récentes recherches sur des *Beggiatoa* d'assez grandes dimensions, dont l'une se rapporte à *B. alba*, m'ont fourni l'occasion de compléter mes observations sur la structure des Bactéries [**205**]. Ces *Beggiatoa* (fig. 32 : 1) montrent, sur le vivant, une quantité variable de granulations de soufre très réfringentes et un grand nombre de grains d'une réfringence un peu moins accusée qui présentent les caractères de graisses ou de lipoïdes (coloration par le Soudan et le bleu d'indophénol), quoique ne réduisant pas l'acide osmique. Les colorations vitales font apparaître quelques corpuscules métachromatiques (fig. 32 : 2, 3 et 5). Après fixation, ces cellules offrent une structure alvéolaire très caractéristique, déterminée par les globules lipoïdes qui emplissent le cytoplasme et qui apparaissent, après la coloration, sous forme de vacuoles (fig. 32 : 7 et 8). Aucune trace du noyau ou de corps central n'est visible. Par contre, la trame cytoplasmique renferme de fines granulations sidérophiles. Mes recherches démontrent donc que les *Beggiatoa* sont dépourvus de corps central et offrent la même structure que j'avais décrite antérieurement dans les autres Bactéries. Si donc on veut trouver dans ces Bactéries un équivalent du noyau, on est obligé de recourir à l'hypothèse que les granulations sidérophiles du cytoplasme représentent une sorte de noyau diffus.

2° *Signification des corpuscules métachromatiques* [**8**, **26**, **31**, **50**]. — Les corpuscules métachromatiques sont bien connus dans les Bactéries depuis les travaux de Babès. Mais leur signification a été mal interprétée par les Bactériologistes et ne pouvait être éclaircie que par des études de Cytologie générale [**8**].

Après les avoir considérés d'abord comme des spores, puis comme des noyaux, les Bactériologistes tendaient, au moment où je commençais mes recherches, à les interpréter comme étant en relation avec la virulence des Bactéries. Leur présence aurait été un signe de la virulence et aurait pu être utilisée comme critérium du degré de virulence d'une Bactérie. On sait d'ailleurs que, pendant longtemps, on a admis que le bacille diphtérique se différencie du bacille pseudo-diphtérique par ses corpuscules métachromatiques (grains de Babès-Ernst) qui font défaut dans le second. Mais ce critérium ne paraît avoir qu'un caractère très relatif : car on peut faire apparaître des corpuscules métachromatiques dans le bacille pseudo-diphtérique en certaines conditions.

Dans une communication au Congrès de la tuberculose (1906), Behring, énumérant les produits qu'il avait extraits du bacille de Koch, s'exprime ainsi au sujet de l'un d'eux :

« C'est une substance soluble seulement dans l'eau pure et qui possède une action

fermentative et catalytique. De cette substance soluble dans l'eau, dérivent les parties toxiques de la tuberculine de Koch. Cette substance a toutes les qualités chromophiles physiques et chimiques de la « volutine » décrite par notre botaniste de Marburg, Arthur Meyer. Je nomme cette substance TV ».

Comme on le voit, l'auteur paraît admettre que les corpuscules métachromatiques, auxquels Arthur Meyer a donné le nom de volutine, représentent la toxine elle-même.

M'appuyant [**8**, **26**, **31**] sur mes recherches relatives à l'évolution des corpuscules métachromatiques dans les Champignons, qui jettent un jour nouveau sur la signification de ces corps, j'ai combattu cette opinion. Dans les Champignons, où ils sont très abondants et montrent des caractères qui permettent de les identifier à ceux que l'on observe dans les Bactéries, les corpuscules métachromatiques paraissent jouer le rôle de produits de réserve. Ils s'accumulent dans l'épiplasme des asques et sont absorbés par les ascospores pendant leur croissance. Il est donc fort douteux qu'ils puissent avoir une relation quelconque avec les toxines.

Plus tard, j'ai repris [**40**, **50**] l'étude des corpuscules métachromatiques, au cours de mes recherches sur la cytologie des Bactéries. Ces recherches ont montré qu'en dehors des grains de chromatine que j'ai décrits, on trouve, dans la plupart des Bactéries, des corpuscules métachromatiques, mais ceux-ci ne sont pas toujours présents à tous les stades du développement, et ne sont pas toujours aussi abondants dans toutes les espèces.

Dans quelques Bactéries *(Bacillus mycoides* et *radicosus)*, ils sont fort rares. Au contraire, les corpuscules métachromatiques sont très abondants dans le *Spirillum volutans*, ainsi que dans les *B. alvei* et *asterosporus*. Chez ces deux dernières espèces, ils apparaissent d'abord aux deux pôles de la cellule, ou au milieu (fig. 31 : 11, 14); plus tard, on en voit naître tout le long de la cellule. En grossissant, ces corpuscules peuvent dépasser la largeur du bacille et (fig. 31 : 16, 17) lui donner un aspect moniliforme. C'est ce qui explique l'erreur de beaucoup de Bactériologistes qui ont décrit ces corps comme des spores. Dans le *Bacillus alvei* et *B. asterosporus*, les corpuscules métachromatiques subsistent, dans le cytoplasme, après la formation de la spore, puis se résorbent ensuite, probablement absorbés par la spore pendant sa croissance (fig. 31 : 15).

3° *Place des Bactéries dans la classification* (**205**). — Mes recherches sur les *Beggiatoa* démontrent que ces Bactéries qui sont parmi celles qui ressemblent le plus, par leurs formes et par leurs mouvements, aux Cyanophycées et sur lesquelles on s'est fondé pour rapprocher les Bactéries des Cyanophycées ne montrent par leur structure aucune ressemblance avec ces Algues (fig. 32). Ces recherches m'amènent donc à ces conclusions importantes qu'il n'existe entre les Bactéries et les Cyanophycées que des relations très incertaines et, en tous cas, très éloignées et que l'on doit renoncer à la théorie classique qui classe les Bactéries parmi les Cyanophycées et séparer définitivement ces deux groupes. Les recherches ultérieures de mon élève M. Petit ont apporté une confirmation à cette opinion en montrant que l'*Oscillospira Guilliermondi*, décrit par Chatton, et qui paraissait, par sa ressemblance avec les Oscillaires, démontrer les relations très étroites entre les Bactéries et les Cyanophy-

cées, possède un corps central analogue à celui des Cyanophycées et doit être par conséquent retranché des Bactéries et considéré comme une Algue bleue qui aurait perdu sa chlorophylle par suite du parasitisme.

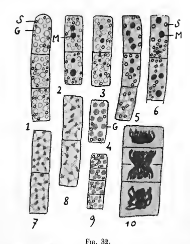


Fig. 32.

Structure des *Beggiatoa* : 1, Filament observé vitalement : S, grains de soufre ; G, globules lipoïdes. — 2 et 3, Filament coloré par le bleu de Crésyl ; M, corpuscule métachromatique. — 4 et 9, Cellules colorées vitalement par le bleu d'indophénol, G, globules lipoïdes. — 5 et 6, Filaments fixés par le formol et colorés par le bleu de Crésyl ; M, corpuscules métachromatiques. — 7 et 8, Filaments fixés par le liquide de Perenyi et colorés par l'hématoxyline ferrique, montrant de fines granulations chromatiques. — 10, Filament de *Phormidium favosum* traité par la même méthode et montrant le corps central et sa division. On voit qu'il n'y a aucune analogie de structure entre cette Algue et les *Beggiatoa*.

Mes recherches sur la structure des Cyanophycées et des Bactéries m'ont valu le prix Montagne (Académie des Sciences, 1909).

V. — RECHERCHES SUR LES GLOBOÏDES DES GRAINS D'ALEURONE

Arthur Meyer, dans son étude sur les corpuscules métachromatiques (grains de volutine), a recherché si ces corps, présents dans la plupart des Bactéries, des Algues et des Champignons, se retrouvent dans les Végétaux supérieurs. Il n'a pu constater nulle part la présence de volutine. Par contre, il mentionne sans insister que les globoïdes présentent quelques-unes des réactions de cette substance.

C'est dans le but de rechercher si ce rapprochement se trouve fondé, par un examen plus complet des caractères histo-chimiques des globoïdes, que j'ai entrepris cette série d'études qui m'a amené à observer l'origine et l'évolution des grains d'aleurone dans les Graminées (Orge, Blé, Maïs) [**33, 36, 37, 41, 42, 43, 46, 47, 49**]. Ces recherches ont été faites en partie avec la collaboration de M. Beauverie [**33, 46**].

1° *Origine et structure des grains d'aleurone : évolution des globoïdes* [**33, 36, 37, 41, 42, 43, 46, 47, 49**]. — Les grains d'aleurone [**49**] naissent très tardivement dans le développement de la graine des Graminées : ils apparaissent dans les périodes qui précèdent immédiatement sa maturation, sous forme de petites vacuoles renfermant des granulations protéiques et des globoïdes. Il est probable qu'au moment de la maturation, la protéine se trouvant en dissolution dans ces vacuoles se précipite tout entière par suite de la déshydratation.

Dans la graine à l'état de vie ralentie, les grains d'aleurone se rencontrent non seulement dans l'assise protéique, où ils sont bien connus, mais encore dans toutes les cellules des divers organes de l'embryon [**43, 49**]. Leur dimension est essentiellement variable, selon la région considérée. Les grains d'aleurone des Graminées sont constitués simplement par une masse protéique renfermant, dans son intérieur, un très grand nombre de globoïdes de diverses dimensions, mais en général très petits.

Dans les premières heures de la germination, la protéine se dissout partiellement et les grains d'aleurone se transforment en vacuoles. A ce stade, les vacuoles dérivées des grains d'aleurone, grâce à leur protéine, fixent les colorants vitaux (rouge neutre, bleu de méthylène), qui donnent une coloration diffuse au suc vacuolaire et font apparaître, à l'intérieur, des granulations protéiques vivement colorées. Celles-ci appa-

raissent d'abord animées de mouvements browniens, puis elles se fusionnent les unes avec les autres sous l'influence du colorant et finissent par se rassembler sur un côté de la vacuole, en une sorte de croissant. Au cours de la germination, ces vacuoles se gonflent, se fondent les unes dans les autres, tandis que les granulations protéiques qu'elles renferment se dissolvent peu à peu. Les globoïdes se gonflent, mais subsistent longtemps après la disparition des grains de protéine. J'ai eu l'occasion de revenir plus tard sur cette question avec l'étude du vacuome (voir plus haut, p. 110). Mes recherches ultérieures n'ont fait que confirmer, en les précisant, les résultats que je viens d'analyser.

2° *Caractères histochimiques de la protéine et des globoïdes* [**46**, **47**, **49**]. — La protéine des grains d'aleurone est facile à fixer; une fois fixée, elle se colore par les teintures bleues ou violettes d'aniline qui lui donnent une coloration métachromatique, d'un bleu verdâtre pâle. Elle fixe d'une manière intense la safranine et l'hématoxyline ferrique et d'une façon diffuse, l'hémalun.

Les globoïdes présentent un certain nombre des caractères des corpuscules métachromatiques. Les fixateurs qui les conservent le mieux sont ceux qui fixent le mieux les corpuscules métachromatiques (alcool et formol); par contre, les fixateurs renfermant de l'acide acétique, qui fixent les corpuscules métachromatiques, dissolvent les globoïdes. Les globoïdes se colorent comme les corpuscules métachromatiques par les colorants bleus et violets d'aniline, et surtout par le bleu Unna qui leur donne une belle coloration rougeâtre. Ils montrent alors le plus souvent une structure concentrique formée d'une série de zones plus colorées séparées par des zones moins colorées.

Les globoïdes se teignent également par le rouge do ruthénium qui colore électivement les corpuscules métachromatiques. Par contre, ils ne se teignent pas par l'hématéine et ne fixent pas les colorants vitaux, contrairement aux corpuscules métachromatiques. Enfin, ils présentent les réactions I, II et VII considérées par Arthur Meyer comme caractéristiques de la volutine.

On sait que les recherches de Posternak ont montré que les globoïdes sont constitués par un hexaphosphate d'inosite, mais Pfeffer a reconnu qu'ils renferment également une matière azotée ou albuminoïde subsistant après traitement par une solution de potasse concentrée qui dissout la partie organo-minérale du globoïde; d'autre part Tschirch et Kritzler ont trouvé, dans les globoïdes, une globuline qui paraît être unie avec la chaux et la magnésie. En traitant des préparations par une solution de potasse concentrée, j'ai obtenu, à la place des globoïdes, un résidu qui montre les mêmes colorations que les globoïdes, et, de plus, se colore en jaune par l'iode. Il est donc possible d'admettre que c'est à cette partie probablement protéique du globoïde qu'est due la coloration de ce corps, et l'on pourrait peut-être rapprocher, dans une certaine mesure, cette substance de la métachromatine.

VI. — RECHERCHES SUR LES CORPUSCULES MÉTACHROMATIQUES

[**45**, **64**]

1° *Importance et fréquence des corpuscules métachromatiques* [**64**]. — Les corpuscules métachromatiques, que j'ai été le premier à mettre en évidence et à caractériser dans les Levures (1901, 1902), n'ont cessé depuis d'être l'objet de mes préoccupations. Mes recherches sur les corpuscules métachromatiques des Levures, bientôt suivies de celles sur l'épiplasme des Ascomycètes (1903), ont établi que ces corps paraissent jouer le rôle de produits de réserve. J'ai enfin insisté sur la généralité et l'importance de ces corps qui se rencontrent non seulement dans les Champignons, mais dans la plupart des Algues et les Bactéries et fréquemment aussi chez les Protozoaires. Mes recherches ne m'ont cependant pas permis de constater leur présence dans les Phanérogames.

Bien qu'on attribue généralement, surtout en Allemagne, la connaissance des corpuscules métachromatiques à Arthur Meyer, il est incontestable cependant que l'important mémoire de cet auteur n'est venu qu'après mes recherches et n'a ajouté aux faits que j'avais apportés que quelques caractères microchimiques nouveaux et une hypothèse sur la constitution chimique des corpuscules métachromatiques, qui consiste à admettre que ces corps seraient constitués par une combinaison d'acide nucléique, hypothèse adoptée ensuite par Kohl, Reichnow et van Herwerden.

Les corpuscules métachromatiques ont été ensuite l'objet d'importantes études sur les Protozoaires les plus divers, dans lesquels ils paraissent très fréquents, et leur rôle de produit de réserve s'y est trouvé confirmé par la plupart des auteurs, entre autres par Reichnow.

J'ai rassemblé dans une Revue générale [**64**] toutes les connaissances acquises sur les corpuscules métachromatiques, en insistant sur ce fait que les auteurs ne s'entendent pas sur la désignation des corpuscules métachromatiques, ce qui jette beaucoup de confusion sur cette question. Je proteste contre l'emploi des termes de *grains de volutine* et de *volutine* créés par Arthur Meyer et adoptés par les Allemands. Le terme de *corpuscules métachromatiques*, proposé par Babès qui les a signalés pour la première fois dans les Bactéries et que j'ai conservé dans mes études bien antérieures à celles de Meyer, a la priorité et doit être préféré à celui de grains de volutine.

Je propose, par la même occasion, de remplacer le terme de *volutine* par celui de *métachromatine* pour désigner la substance, de nature encore inconnue, qui constitue ce corps. J'ai eu la satisfaction de voir que j'ai été suivi dans cette proposition et que, depuis lors, le terme de métachromatine a été universellement adopté [1].

2° *Relation des granulations des Mastzellen (leucocytes à granulations basophiles) avec les corpuscules métachromatiques.* — Dans d'autres recherches en collaboration avec le Dr Mawas, j'ai montré que les granulations des Mastzellen ou leucocytes à granulations basophiles (Rat, Grenouille) présentent tout l'ensemble des caractères histochimiques des corpuscules métachromatiques et n'en diffèrent que par le seul fait qu'elles ne se colorent pas par l'hématéine ; cette différence n'est peut-être pas très importante, car Jolly a remarqué que les grains de certaines Mastzellen se colorent par l'hématéine. Il est donc permis d'admettre que ces granulations auxquelles Ehrlich attribue le rôle de produit de réserve, rôle que paraissent avoir aussi les corpuscules métachromatiques, sont chimiquement très voisines des corpuscules métachromatiques.

Ce résultat a été récemment l'objet d'une confirmation de Wermel et Sassuchin (Untersuchungen über die Kernsubstanzen und die methoden ihrer Darstellung, *Zeitschr. f. Zellforschung*, 1927, p. 433).

[1] Je crois intéressant de reproduire ici ce passage emprunté à Dobell. « Le premier qui ait observé ces grains dans les Bactéries paraît avoir été Babès. C'est lui qui leur a donné le nom de corpuscules métachromatiques. Il ne semble guère douteux que la majorité des grains qui ont été décrits dans les cellules bactériennes appartiennent réellement à cette classe de corps. Des observateurs différents ont donné des noms différents à ces grains, et cela a été en grande partie la cause de la confusion qui existe actuellement à leur sujet. Il paraît certain que les corpuscules métachromatiques de Babès, les grains de Ernst, les grains rouges de Butschli, une partie de grains de Warlich, les grains de Fischer, les sphérules de volutine de Grimme, les grains de volutine de A. Meyer, les grains toxigènes de Behring, les corps de Babès-Ernst et de beaucoup de bactériologistes, sont en réalité les mêmes, c'est-à-dire les corps que j'appellerai corpuscules métachromatiques. Ce nom convient à ces corps, et a été employé par Guilliermond dans ses importantes recherches sur leur nature, et j'espère avec lui qu'il trouvera une acceptation universelle et aidera à éclaircir la confusion qui existe encore sur ces formations. » (Clifford Dobell, Contributions to the Cytology of the Bacteria, 1910, *The Quarterly Journal of Microscopical Science*, p. 463).

VII. — RECHERCHES SUR LES CONSTITUANTS MORPHOLOGIQUES DU CYTOPLASME ET SUR LES PRODUITS DU MÉTABOLISME CELLULAIRE

I. — LE CHONDRIOME. — ÉVOLUTION DES PLASTES

A. — Évolution des mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens et origine des plastes.

Jusque dans ces dernières années, les techniques histologiques n'avaient pas permis d'aborder l'étude du cytoplasme. Les travaux récents de cytologie animale de Benda, Meves, Regaud, Fauré-Frémiet, etc., ont démontré à l'aide de méthodes nouvelles, *dites mitochondriales*, que le cytoplasme renferme des organites constitutifs que les procédés de fixation employés jusqu'ici ne permettaient pas de conserver. Ces organites qui correspondent aux anciens *bioblastes* de Altmann, dont les travaux modernes démontrent la réalité, ont reçu les noms de *mitochondries*, *chondriosomes* ou *plastosomes*. Leur ensemble constitue le chondriome de la cellule, et toute cellule a son chondriome. Les mitochondries paraissent incapables de se former autrement que par division de mitochondries préexistantes. Elles ont des formes bactériennes : grains ou mitochondries granuleuses, bâtonnets et filaments ou chondriocontes. Ces formes peuvent passer de l'une à l'autre : le grain s'allonge en filament par croissance en longueur, et le filament peut se segmenter en grains. On attribue aux mitochondries une constitution lipo-protéique et un rôle élaborateur. Les mitochondries contribueraient à la formation des grains de zymogène, des graisses et serviraient de substratum aux pigments. On a supposé qu'elles ont également un rôle dans l'hérédité.

Les mitochondries constatées déjà dans les cellules végétales par un petit nombre d'auteurs venaient, au moment où j'ai abordé leur étude, de faire l'objet de recherches de Pensa (1910) et Lewitsky (1911). Ces auteurs tendaient à admettre que les plastes ou leucites des Phanérogames dérivent de la différenciation des mitochondries.

On sait que, si la persistance des plastes et leur évolution était parfaitement

connue dans les Algues Chlorophycées, grâce aux travaux de Schinz, il n'en était pas de même dans les Végétaux supérieurs.

Les travaux de Schimper et d'Arthur Meyer ont admis, en se fondant sur ce qui existe dans les Algues, que les plastes se transmettent aussi, par division, de cellules en cellules à partir de l'œuf. Mais les conclusions de ces anteurs ont été fortement discutées, notamment par Belzung, et l'on a même contesté que l'amidon ne puisse se former que par l'intermédiaire des plastes. Les plastes sont, en effet, dépourvus

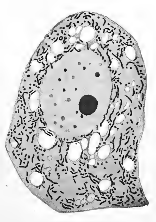


FIG. 33. — Sac embryonnaire de *Lilium candidum*, au début de sa différenciation. (Grossissement : 1.500. Méthode de Regaud).

de chlorophylle dans les tissus embryonnaires des Végétaux supérieurs et, comme ils y sont très petits et que, jusqu'ici, faute de méthodes permettant de les fixer et de les colorer, on était réduit à l'observation vitale, le problème restait insoluble.

La question de l'origine des plastes, dans les Phanérogames, à partir des mitochondries, avait donc une très grande importance et méritait la plus grande attention.

Mes recherches ont démontré, dès 1911 [**73, 74, 75**], la présence, dans les cellules embryonnaires d'un grand nombre de Phanérogames, d'un chondriome tout à fait semblable à celui de la cellule animale, et la transformation d'une partie des éléments de ce chondriome en plastes, au moment de la différenciation cellulaire. Elles ont fait ressortir, en outre, que les plastes sont parfaitement fixés et colorés par les méthodes mitochondriales qui constituent un procédé précieux pour leur étude.

1° Le chondriome dans les organes sexuels [**85, 90, 142, 143, 153, 197, 199**]. — Le chondriome se trouve dans toutes les cellules du nucelle des Liliacées (Tulipe et Lis) et dans le sac embryonnaire qui en dérive.

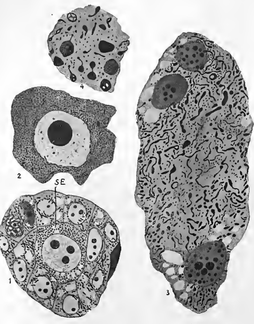


Fig. 34.

Evolution du chondriome pendant le développement du sac embryonnaire des Liliacées : 1, Nucelle et sac embryonnaire (SE) au début de sa différenciation dans *Lilium croceum* : le chondriome est exclusivement constitué par des mitochondries granuleuses. — 2, Sac embryonnaire de *L. croceum* un peu avant la première mitose : Un certain nombre de mitochondries granuleuses s'allongent en chondriocontes qui commencent à se transformer en plastes protéinogènes. — 3, Sac embryonnaire de *Lilium candidum* à un stade plus avancé : on y voit la transformation des chondriocontes en plastes protéinogènes. — 4, Fragment du sac embryonnaire de *L. croceum* montrant tous les stades de transformation des chondriocontes en plastes protéinogènes (méthode de Regaud).

Au début du développement du sac embryonnaire de *Lilium candidum* (fig. 33) on observe un chondriome constitué par un mélange de chondriocontes, de courts

bâtonnets et de mitochondries granuleuses. Dès le stade synapsis, les chondriocontes se transforment en gros plastes ; ils s'épaississent et prennent les formes les plus variées : fuseaux à pointes effilées, haltères, figures en massues, etc. Quelques-uns offrent un aspect nettement cristallin. Cette différenciation ne s'effectue pas simultanément, mais se poursuit lentement jusqu'à la fin des trois mitoses successives (fig. 34 : 3). Elle ne porte pas cependant sur les chondriocontes situés dans le voisinage des noyaux qui, eux, se segmentent et prennent simplement l'aspect de petits plastes ronds ou en bâtonnets, un peu plus gros que les autres mitochondries. Au cours de ces processus, les autres mitochondries, d'abord en forme de grains ou de courts bâtonnets ont une tendance à s'allonger en chondriocontes qui se distinguent des plastes par leur minceur. L'oosphère, les synergides et les antipodes, une fois délimités, montrent à la fois des plastes arrondis et de nombreuses mitochondries en forme de chondriocontes ou de grains. On observe des éléments semblables autour du noyau du sac embryonnaire; mais, dans les autres régions de cette cellule, on retrouve les gros plastes formés antérieurement et qui, à ce moment, paraissent subir une sorte de digestion leur donnant les aspects les plus variés : corps ronds ou de formes cristallines entourés de zones concentriques, perdant peu à peu leur chromaticité et se dissolvant dans le cytoplasme. Il semble que ces plastes qui n'élaborent ni amidon, ni chlorophylle, forment à leur intérieur de la protéine, souvent à l'état de cristalloïdes, et, qu'à la fin du développement du sac embryonnaire, ils sont peu à peu digérés pour servir de matières de réserve utilisées pour le cloisonnement du sac embryonnaire. Ces plastes protéinogènes sont à rapprocher de ceux qui ont été décrits par M. Guignard dans les grains de pollen des Asclépiadacées.

Des phénomènes semblables ont été observés dans les *Lilium croceum* et *Martagon*. Dans le *L. croceum*, cependant, le chondriome, au moment de la différenciation du sac embryonnaire, est constitué exclusivement par des mitochondries granuleuses : et c'est une partie de celles-ci qui s'allongent ensuite en chondriocontes et se transforment en plastes protéinogènes (fig. 34 : 1, 2 et 3). Par contre, la production de ces plastes fait défaut dans le sac embryonnaire de *Tulipa suaveolens* dans lequel le chondriome, constitué au début par un mélange de chondriocontes et de mitochondries granuleuses, reste à cet état jusqu'à la fin du développement.

Dans les cellules primordiales des grains de pollen de *Lilium candidum* [**153**, **199**], le chondriome apparaît constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes (fig. 35 : 1). Dans les cellules-mères, dès le stade synapsis, tout le chondriome devient granuleux, mais on observe des mitochondries légèrement plus grosses que les autres, qui représentent des plastes (fig. 35 : 2 et 3). Dès le début de la première division des cellules-mères des grains de pollen, les plastes prennent la forme de chondriocontes (fig. 35 : 4 à 7), tandis que les autres mitochondries restent granuleuses. Les chondriocontes se segmentent en grains au cours de ces mitoses, et, les mitoses achevées, on distingue, dans les grains de pollen, des mitochondries granuleuses très petites et des plastes arrondis ou en courts bâtonnets résultant de la segmentation des chondriocontes et seulement très légèrement plus gros que les mitochondries (fig. 35 :

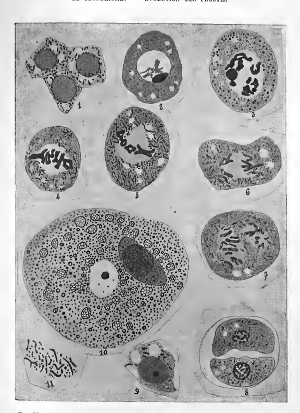


Fig. 35. — Evolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen de *Lilium candidum*.

1, Cellules-mères primordiales des grains de pollen. — 2, Cellule-mère définitive des grains de pollen, au stade synapsis : les amyloplastes apparaissent sous forme de grains légèrement plus gros que les autres mitochondries. — 3, *Id.*, au début de la prophase. — 4 et 5, *Id.*, à la métaphase. Les amyloplastes ont pris la forme de chondriocontes. — 6 et 7, *Id.*, à l'anaphase. — 8, Délimitation des grains de pollen. — 9, Jeune grain de pollen. — 10, Grain de pollen définitivement constitué, les amyloplastes se distinguent des autres mitochondries par leurs dimensions un peu plus élevées ; beaucoup forment de l'amidon, et l'on observe tous les stades de formation des grains d'amidon composés. — 11. Portion de chondriome d'une cellule mère pendant la mitose, à un très fort grossissement ; on y voit les amyloplastes en forme de chondriocontes, et les mitochondries granuleuses (méthode de Regaud).

8 et 9). Lorsque le grain de pollen est arrivé à maturation, il renferme un très grand nombre de mitochondries granuleuses parmi lesquelles on distingue un assez grand nombre de grains un peu plus gros : ceux-ci représentent des amyloplastes et élaborent d'assez gros grains d'amidon composés par un processus que je décrirai plus loin (fig. 35 : 10).

2° Différenciation des plastes dans les membres de la plante. — On retrouve, dans toutes les cellules des méristèmes, un chondriome constitué par des mitochondries



Fig. 36. — Evolution du chondriome dans la racine de Haricot.

1, Cellules du méristème avec chondriome constitué par des grains et des chondriocontes. — 2, Id., avec une cellule en voie de mitose (télophase). — 3, Cellule du parenchyme cortical. Les chondriocontes qui représentent les amyloplastes forment sur leur trajet de petits renflements dans lesquels apparaissent des grains d'amidon d'abord simples, puis composés (grossissement : 1.200). — 4, Chondriome d'une cellule semblable, à un grossissement de 3.000 · A, Amyloplastes ; a, Amidon ; M, Mitochondries ne jouant pas de rôle dans la formation de l'amidon, à l'état de grains ou de bâtonnets (méthode de Regaud).

granuleuses, des bâtonnets et des chondriocontes. L'évolution de ce chondriome pendant la différenciation cellulaire varie beaucoup selon le tissu considéré.

a) *Amyloplastes* [**75, 82, 83, 90, 109, 111, 112, 146, 196, 198, 202**]. — Dans les tissus incolores (cellules des divers tissus de la racine et épidermes), le plus souvent une partie des éléments du chondriome se différencie des autres par des dimensions légèrement supérieures, tout en conservant leurs formes caractéristiques de mitochondries. Les éléments qui se différencient ainsi, et qui représentent des amyloplastes, sont presque toujours des chondriocontes et beaucoup plus rarement des grains et des bâtonnets. Au contraire, les éléments qui conservent leurs dimensions primitives sont, le plus souvent, des grains et des bâtonnets (parenchyme cortical des racines de Courge, Ricin, Pois, etc.). Rarement, les amyloplastes sont plus différenciés et affectent la forme de gros bâtonnets ou de gros fuseaux, comme dans la racine de *Phajus grandifolius* où ils ont été décrits par Schimper. Dans d'autres cas, une partie des éléments du chondriome, surtout les chondriocontes, élaborent directement de l'amidon sans subir la moindre différenciation (racines de Haricot (fig. 36), d'*Elodea canadensis*, cellules du cylindre central de la plupart des racines, épidermes de la plupart des feuilles et des fleurs, comme celles d'Iris et de Tulipe).

L'amidon se forme selon le processus suivant que j'ai décrit pour la première fois : le chondrioconte forme à l'une de ses extrémités, ou au milieu, ou sur plusieurs points de son trajet, de petits renflements. Chacun de ces renflements prend bientôt l'aspect d'une vésicule déterminée par la présence en son sein d'un petit grain d'amidon, non coloré par les méthodes mitochondriales, et entouré d'une écorce mitochondriale (fig. 36 : 3, 4 et 37). Peu après, d'autres petits grains d'amidon naissent à côté du premier aux dépens de l'écorce mitochondriale, et l'on arrive ainsi à la formation d'un grain composé qui reste toujours entouré d'une écorce mitochondriale, devenant de plus en plus mince à mesure que le grain grossit, et muni d'un appendice effilé, reste du chondrioconte générateur. Les grains d'amidon peuvent aussi, bien que plus rarement, naître aux dépens de grains ou de bâtonnets mitochondriaux non différenciés qui se transforment intégralement en vésicules. C'est le processus ordinaire dans le tubercule de Pomme de terre où il n'existe que des mitochondries granuleuses.

En traitant [**75, 83, 90**] par le réactif iodo-ioduré des préparations fixées et colorées par la méthode de Regaud, j'ai pu obtenir la réaction caractéristique de l'amidon dans les vésicules, même les plus petites, sans détruire la coloration du chondrioconte [1].

[1] Tous ces faits ont été confirmés par un grand nombre d'auteurs. Meves dit à ce sujet : « Guilliermond a montré, ce que j'ai confirmé ici, que les plastosomes peuvent élaborer directement de l'amidon. » (Meves, Hist. krit. Unters. über die Plastosomen der Pfanzenzellen, *Arch. f. mik. Anat.*, 1917, p. 299).

Plus récemment, un élève de M. Guignard, M. Mascré, s'exprime ainsi à la suite de ses recherches sur le chondriome des cellules nourricières des grains de pollen :

« On observe de très nombreux chondriocontes, assez minces, légèrement flexueux ; quelques-uns sont légèrement renflés à leurs extrémités ; d'autres forment à l'une de leurs extrémités ou sur leur trajet des renflements. Tous ces aspects, bien connus depuis les travaux de Guilliermond, corres-

La méthode de Champy-Kull permet aussi d'obtenir la coloration de l'amidon par le bleu de toluidine dans le chondrioconte coloré par la fuchsine acide, mais les résultats sont plus inconstants [**118**].

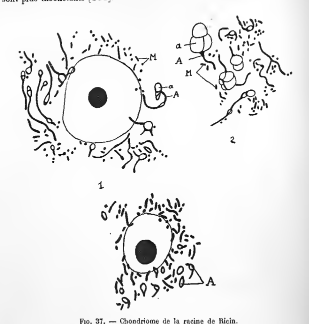


Fig. 37. — Chondriome de la racine de Ricin.

En bas : Noyau d'une cellule du méristème, entourée de son chondriome. Il est impossible de distinguer les mitochondries qui joueront un rôle dans la formation de l'amidon, de celles qui ne participeront pas à ce phénomène. Cependant déjà un certain nombre des éléments du chondriome (A) forment de petits grains d'amidon. — 1, Noyau entouré de son chondriome dans une cellule du parenchyme cortical. Les chondriocontes (A) représentent les amyloplastes et forment des grains d'amidon composé (a); d'autres mitochondries à l'état de grains ou de bâtonnets ne participent pas à ce phénomène (M). — 2, Chondriome d'une cellule semblable, montrant tous les stades de la formation des grains d'amidon composés (Grossissement : 2 000. Méthode de Regaud)

pondent à la formation des plastides (Mascré, *Rech. sur le dév. de l'anthère chez les Solanacées*, thèse Doctorat ès sciences de la Faculté des Sciences de Paris, 1921, p. 27).

Et plus loin le même auteur dit : « L'amidon est d'origine mitochondriale, et l'on retrouve tous les aspects aujourd'hui classiques décrits par Guilliermond. De petits renflements apparaissent sur le trajet ou à l'extrémité des chondriocontes dans lesquels se forme un petit grain d'amidon (*Ibid.*, p. 78).

C'est seulement dans des cas très rares qu'on a pu réaliser, en cytologie animale, l'observation vitale du chondriome (Laguesse, Fauré-Fremiet, R. et H. Lewis, G. Levi). Il était donc du plus haut intérêt de chercher, chez les Végétaux, des exemples qui permissent de contrôler, sur le vivant, les résultats obtenus par les techniques mitochondriales. Aussi, je me suis efforcé de rechercher des Végétaux se prêtant aux observations vitales, et j'ai trouvé les conditions les meilleures chez l'*Iris germanica* [**112, 146**] dont les cellules épidermiques des feuilles et des fleurs constituent certainement les objets les plus favorables que l'on connaisse pour l'observation vitale du cytoplasme. J'ai entrepris, dès 1913, des études vitales très détaillées des cellules des divers tissus de l'*Iris germanica* à tous les stades du développement, et j'ai réalisé ainsi les observations vitales les plus complètes qui aient été faites jusqu'à ce jour.

En détachant à l'aide d'un scapel l'épiderme de l'anthère d'une très jeune fleur encore fermée, de quelques millimètres de long, en le montant dans une solution isotonique sucrée, puis en l'examinant à un très fort grossissement, il est facile d'observer avec la plus grande netteté le chondriome : celui-ci se distingue dans le cytoplasme d'apparence homogène, par une réfringence légèrement supérieure ; il est composé par des chondriocontes allongés et onduleux, parfois ramifiés, et par des bâtonnets et des mitochondries granuleuses. Les chondriocontes montrent, sur leur trajet, de petits grains d'amidon très réfringents, simples ou composés, que l'on peut colorer par le réactif iodo-ioduré sans altérer le chondriome. On obtient ainsi la preuve directe de la formation de l'amidon au sein des chondriocontes.

On observe les mêmes particularités dans l'épiderme des feuilles (fig. 43) et des bractées très jeunes, ainsi que dans celui des pétales ou des sépales d'une très jeune fleur de cette espèce.

b) *Chloroplastes* [**74, 81, 84, 90, 138, 144, 179, 189, 196, 198, 202**]. — Les jeunes feuilles de la gemmule d'Orge m'ont permis de suivre facilement, à l'aide de la méthode de Regaud, la formation des chloroplastes aux dépens d'une partie des éléments du chondriome. On constate que, pendant la différenciation des cellules du méristème qui occupe la base de la feuille, il se forme, sur le trajet des chondriocontes, de petits renflements qui s'isolent par rupture des parties effilées qui les unissent, grossissent et prennent l'aspect de gros chloroplastes arrondis. J'ai observé le même phénomène dans beaucoup d'autres bourgeons (Ricin, Haricot, etc.) ; mais, parmi eux, celui d'*Elodea canadensis*, déjà étudié par Lewitsky, présente un très grand intérêt, parce qu'il permet de contrôler sur le vivant ce que l'on observe sur les préparations traitées par les méthodes mitochondriales (fig. 38).

Le point végétatif de la tige et les plus jeunes ébauches foliaires sont dépourvus de chlorophylle mais ne permettent pas d'observer leur chondriome sur le vivant : par contre, dans les ébauches foliaires un peu plus développées, il est facile de suivre tous les stades de la formation des chloroplastes aux dépens des chondriocontes : ceux-ci verdissent, puis se transforment peu à peu par le procédé ordinaire en gros chloroplastes, tandis que d'autres éléments du chondriome : grains, bâtonnets,

et même chondriocontes typiques, subsistent sans se modifier à côté de ces chloroplastes.

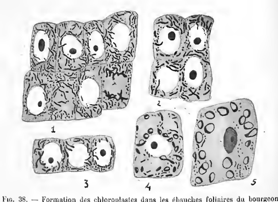


Fig. 38. — Formation des chloroplastes dans les ébauches foliaires du bourgeon d'*Elodes canadensis*.

1, Cellules d'une jeune ébauche foliaire, avec chondriome constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes ; à droite, une cellule est en voie de mitose (télophase). — 2 et 3, Cellules d'ébauches un peu plus développées ; une partie des chondriocontes s'épaississent et forment sur leur trajet des renflements, qui ensuite se sépareront, par rupture des parties effilées qui les réunissent, pour former de petits chloroplastes. — 4 et 5, Cellules d'ébauches encore plus développées ; les chloroplastes sont formés et élaborent de gros grains d'amidon ; il subsiste, en dehors de ces éléments, des mitochondries en forme de grains, de bâtonnets et même de chondriocontes (Grossissement : 1 125 ; méthode de Regaud.)

c) *Chromoplastes* [**88, 90, 99, 112, 113, 121, 146**]. — Le meilleur procédé pour étudier la différenciation des chromoplastes consiste dans l'observation vitale : et la fleur d'*Iris germanica* [**99, 112, 146**] m'a été encore, à ce point de vue, d'une grande ressource. Dans les cellules des sépales, il existe, dans le voisinage de l'onglet, une région où l'épiderme est jaune et renferme des chromoplastes chargés de xanthophylle. Il est facile de constater, sur le vivant, que ces chromoplastes se différencient à partir de chondriocontes : ceux-ci s'imprègnent de pigments, en même temps qu'ils élaborent de petits grains d'amidon ; puis, après la résorption de l'amidon, grossissent beaucoup et prennent l'aspect de filaments, de fuseaux ou de bâtonnets, très gros, tandis qu'à côté d'eux subsistent de petites mitochondries incolores à l'état de bâtonnets, parfois de chondriocontes, mais surtout de grains.

Un autre exemple, qui peut être considéré avec l'*Iris germanica* comme un des plus beaux objets d'étude pour l'observation vitale du chondriome, est la fleur de Tulipe [**121, 146**]. Dans les variétés blanches, les cellules épidermiques des pétales des fleurs les plus jeunes renferment un chondriome à l'état de grains et de bâtonnets ; puis,

très vite, une partie de ces éléments s'allongent et se transforment en longs chondriocontes. Dans les cellules adultes, le chondriome apparaît toujours constitué par de très nombreux chondriocontes, parfois ramifiés, très minces, très allongés et onduleux. Ce chondriome est tout à fait semblable au chondriome de la cellule animale. Or, dans les régions de l'onglet où l'épiderme renferme toujours un pigment xanthophyllien jaune, on constate que celui-ci se trouve localisé dans les chondriocontes, tandis que les mitochondries en forme de grains et de bâtonnets restent incolores. Dans les variétés jaunes, on retrouve les mêmes particularités. Ici les chromoplastes sont donc représentés par de simples chondriocontes.

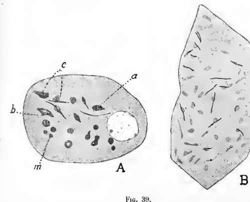


Fig. 39.

A, Cellule de la capsule surrénale du Cobaye avec formation de pigment à l'état d'aiguilles cristallines au sein de plastes dérivés de mitochondries granuleuses (Méthode de Regaud) ; d'après Mulon. — B, Formation d'aiguilles cristallines de carotine aux dépens de chromoplastes dérivés de chondriocontes dans une cellule épidermique de pétale de Glaïeul (sur le vivant). On voit que, dans les deux cas, les phénomènes sont semblables.

On peut trouver, dans les épidermes de beaucoup d'autres fleurs de Monocotylédones, ainsi que dans certains fruits [**146**], de nombreux exemples favorables à l'étude vitale du chondriome ; c'est ainsi que les fleurs de *Clivia* m'ont permis d'observer la formation du pigment carotinien qui apparaît également dans des chondriocontes, mais sous forme d'aiguilles cristallines. Le chondriome est d'abord constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes incolores, puis les chondriocontes forment en leur sein de minces aiguilles cristallines de pigment rouge.

J'ai fait de nombreuses observations sur les plantes les plus diverses : et, de cette étude on peut tirer les conclusions suivantes :

Les pigments du groupe des xanthophylles apparaissent, dans les chromoplastes,

à l'état de très petites granulations confuses. Au contraire, les pigments du groupe des carotines sont toujours à l'état de grains nettement individualisés ou de cristaux.

Les pigments apparaissent soit dans des chondriocontes typiques (épiderme des fleurs de Tulipe, Glaïeul, *Clivia*), soit dans des chromoplastes plus gros que les mitochondries, en forme de corpuscules arrondis ou de fuseaux, mais dérivés de chondriocontes typiques (épiderme des fleurs d'*Iris*, de *Lilium croceum*, arille de *Taxus baccata*, épicarpe de fruits d'*Asparagus officinalis* et d'*Arum italicum*, racine de Carotte), soit enfin dans des chloroplastes dont la chlorophylle se résorbe et se trouve remplacée par un pigment xanthophyllien ou carotinien; ce dernier cas s'observe dans la plupart des cellules des tissus parenchymateux des fleurs et des fruits.

Il est très curieux de constater que les processus de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens par l'intermédiaire des chondriocontes paraissent tout à fait superposables aux processus d'élaboration de certains pigments de la cellule animale récemment décrits par Policard, Mulon, Prenant, Asvadourova, Luna, etc. (fig. 39).

d) *Formation de granulations lipoïdes au sein de chondriocontes* [**113**, **146**]. — Mes observations ont démontré la production fréquente de granulations lipoïdes osmio-réductrices, au sein des chondriocontes destinés à se transformer en amylo-chloro- ou chromoplastes. Ces granulations ne se rencontrent ordinairement pas dans les Dicotylédones, mais sont assez répandues chez les Monocotylédones et surtout dans les *Iris*. C'est ainsi que, dans l'*Iris germanica*, les chondriocontes destinés à se transformer en plastes dans les feuilles, les bractées, et les pièces du périanthe se remplissent de petites granulations réfringentes et osmio-réductrices. Ces granulations ne sont que transitoires et se résorbent en général partiellement ou totalement après l'élaboration de l'amidon, de la chlorophylle et de la xanthophylle, bien qu'elles ne paraissent pas avoir de relation directe avec la production de l'amidon et des pigments Il est difficile de préciser le rôle de ces formations. Peut-être sont-elles simplement dues à une séparation des lipoïdes du complexe lipropotéique qui constitue le plaste.

3° Caractères vitaux du chondriome [**121**, **122**, **126**, **146**, **199**]. — Les cellules épidermiques des fleurs de Tulipe et d'Iris et en particulier celles des bractées d'Iris m'ont permis d'observer les caractères physiologiques du chondriome, les altérations qu'il subit sous certaines influences physico-chimiques, la manière dont il se comporte vis-à-vis des réactifs chimiques.

Dans les jeunes bractées d'*Iris germanica*, le cytoplasme se trouve réduit à une mince zone pariétale entourant une énorme vacuole qui occupe presque toute la cellule. Il est relié au noyau, situé sur l'un des côtés de la cellule, par de minces brides traversant la vacuole. Le chondriome se détache très nettement du cytoplasme d'aspect homogène et hyalin par une réfringence un peu plus accusée quoique toujours très faible (fig. 44 : 1 et 2). Il est constitué par des éléments en forme de grains, de bâtonnets et de chondriocontes. Le cytoplasme est le siège de courants plus ou moins rapi-

des allant du noyau à la périphérie et inversement, entraînant lentement les éléments du chondriome. Les chondriocontes se déplacent en se déformant sans cesse, ce qui montre leur extrême plasticité et leur consistance semi-solide. J'ai compté qu'ils peuvent se déplacer du noyau à la périphérie en une seconde environ. On observe dans le cytoplasme, en dehors de ces éléments, de petits grains osmio-réducteurs ordinairement plus petits que les mitochondries granuleuses et qui s'en distinguent par une vive réfringence et des mouvements plus rapides ; ceux-ci sont souvent très nombreux (Voir p. 128).

La plupart des colorants vitaux sont sans effet sur les mitochondries et ne se fixent que sur le contenu de la vacuole riche en composés phénoliques. Les colorants vitaux préconisés pour les mitochondries (violet de Dahlia et vert Janus) ne pénètrent pas facilement à travers les parois cellulosiques. Cependant, j'ai parfois réussi à obtenir une coloration diffuse du chondriome par le violet de Dahlia.

Le réactif iodo-ioduré conserve les mitochondries en les jaunissant plus ou moins ; les solutions d'acide osmique les conservent également et ne les brunissent pas.

Les mitochondries se révèlent comme les éléments les plus fragiles de la cellule. Elles sont sensibles au moindre trouble survenu dans l'équilibre osmotique de la cellule. En milieu hypotonique, elles se transforment rapidement en grosses vésicules aqueuses, à paroi dense, qui, en grossissant, arrivent au contact les une des autres et simulent une structure alvéolaire du cytoplasme. Ces vésicules peuvent éclater par la pression de leur liquide intérieur. Une pression exercée sur la lamelle de la préparation peut déterminer la même transformation des mitochondries en vésicules. Les mitochondries sont également sensibles à l'action de la chaleur : une température de 45 à 50 degrés suffit à les détruire. Tous ces caractères correspondent à ceux qui ont été observés pour les mitochondries de la cellule animale.

4° Dégénérescence du chondriome [**127, 146**]. — J'ai étudié la dégénérescence du chondriome dans des observations vitales sur les épidermes des fleurs. Dans la majorité des cas, la dégénérescence du chondriome pendant la fanaison de la fleur se manifeste par une transformation des chondriocontes et des mitochondries granuleuses en vésicules, puis par la résolution de la paroi de ces vésicules en petites granulations réfringentes.

Au contraire, dans les cellules épidermiques d'*Iris*, les plastes présentent, au moment de la dégénérescence, des phénomènes très spéciaux, consistant en une production au sein des plastes d'une grande quantité de petites granulations lipoides qui se répandent dans le cytoplasme par suite de la résorption du substratum mitochondrial. Une fois mises en liberté dans le cytoplasme, ces granulations se fusionnent en gros globules. Les plastes subissent donc une sorte de dégénérescence graisseuse qui a déjà été observée par Laurent dans des cas pathologiques (maladie des feuilles des Palmiers). Les mitochondries qui coexistent avec les plastes, au contraire, ne présentent pas ces phénomènes.

5° Fixation du chondriome [**123**, **146**]. — Les épidermes des fleurs d'*Iris* et de *Tulipa* m'ont permis d'établir une comparaison aussi étroite que possible entre l'aspect du cytoplasme vivant et celui du cytoplasme fixé, et d'apporter ainsi la plus importante contribution qui ait été faite jusqu'ici à l'étude de la fixation du cytoplasme. Il résulte de cette étude que la difficulté de fixation du chondriome a pour cause principalo : 1° l'action nocive de l'alcool et de l'acide acétique sur les mitochondries ; 2° les troubles occasionnés par le fixateur dans l'équilibre osmotique de la cellule.

Les fixateurs ordinairement employés en cytologie détruisent le chondriome, parce qu'ils renferment de l'acide acétique ou de l'alcool, et donnent au cytoplasme une structure granulo-alvéolaire artificielle, mais conservent très bien le noyau ; ce sont des fixateurs nucléaires. Le chondriome résiste assez bien aux liquides de Flemming, au formol et aux solutions aqueuses de sublimé ou d'acide picrique. Les méthodes mitochondriales (liquide chromo-osmique de Meves et le mélange bichromate-formol de Regaud) conservent très bien les mitochondries et reproduisent aussi fidèlement que possible l'aspect que présente le chondriome sur le vivant. Ce sont donc des fixateurs protoplasmiques par excellence, et leurs résultats sont absolument sûrs. Mes recherches montrent, en outre, que la postchromisation (traitement prolongé des pièces dans une solution de bichromate de potassium, après la fixation) n'est pas absolument nécessaire ; elle semble n'agir que comme mordant.

Les amyloplastes et les chromoplastes dérivés des mitochondries offrent exactement les mêmes caractères que les mitochondries vis-à-vis des fixateurs. Seuls les chloroplastes se montrent beaucoup plus résistants que les mitochondries. Cette résistance paraît être en relation avec la présence de la chlorophylle Mes résultats établissent donc que les mitochondries de la cellule végétale, de même que les plastes qui en dérivent, présentent les mêmes caractères que les mitochondries de la cellule animale.

6° Origine et évolution des plastes. Interprétations générales [**86**, **90**, **96**, **105**, **106**, **107**, **117**, **130**, **134**, **137**, **138**, **144**, **146**, **190**, **197**, **200**, **203**]. — a) *Mitochondries et plastes*. — Mes recherches effectuées sur un très grand nombre de plantes, pendant dix ans, démontrent donc d'une manière rigoureuse que les formations bien connues depuis les beaux travaux de W. Schimper, sous le nom de plastes, sont formées chez les Phanérogames à partir d'éléments morphologiquement et histochimiquement tout à fait semblables aux mitochondries de la cellule animale. Les formes juvéniles de ces plastes étaient restées jusqu'ici inconnues dans les Phanérogames, parce que l'on ne possédait pas de méthode qui permette de les fixer et de les colorer, et que les observations vitales dans les cellules embryonnaires sont le plus souvent impossibles à réaliser. Il résulte également de mes recherches que les plastes, une fois différenciés, conservent les formes et les caractères histochimiques des mitochondries et s'en distinguent seulement par leurs dimensions plus volumineuses. Et même dans la plupart des cas, les amyloplastes et les chromoplastes présentent, pendant tout leur

développement, l'aspect et les dimensions tout à fait caractéristiques de chondriocontes, ce qui, jusqu'ici, avait échappé aux observations [1].

De ces faits incontestables, j'avais cru pouvoir conclure d'abord, avec Lewitsky et Pensa, après mes premières recherches [**86**, **90**, **105**, **106**, **107**, **130**, **134**, **137**, **138**, **144**, **146**], que les plastes se différenciaient, dans les Phanérogames, à partir d'un certain nombre des éléments du chondriome, et qu'une fois différenciés, ils constituaient en quelque sorte une variété de mitochondries spécialisées dans une fonction déterminée, et pouvant acquérir des formes plus volumineuses que les autres mitochondries. Cette conclusion fut adoptée ensuite par un certain nombre d'auteurs qui ont vérifié mes résultats (Forenbacher, Maximov, Wagner, Cowdry, Mirande, Alvarado, Meves).

Mais cette manière de voir soulevait une objection théorique. En effet, si, dans les Phanérogames l'origine des plastes était restée inconnue jusqu'ici, il n'en est pas de même dans la plupart des Algues. Chez ces Végétaux, en effet, les plastes conservent de la chlorophylle pendant tout le développement (y compris dans l'œuf); de plus, ils sont souvent en très petit nombre dans chaque cellule, parfois même il n'en existe qu'un seul, très volumineux et de forme complexe, comme chez les Spirogyres, et il est depuis longtemps démontré que ces chloroplastes se transmettent de cellules en cellules par l'intermédiaire de l'œuf. On comprend donc difficilement que les chloroplastes des Algues, qui sont incontestablement homologues des plastes des Phanérogames, n'aient pas la même origine que ces derniers. J'avais, à cet effet, observé à l'aide des méthodes mitochondriales diverses espèces d'Algues [**96**, **117**] : *Spirogyra*, *Cosmarium*, Diatomées, mais partout il m'avait été impossible de mettre en évidence la présence de mitochondries et comme, d'autre part, le chloroplaste unique des Spirogyres et les chloroplastes très différenciés et très peu nombreux de *Cosmarium* et des Diatomées présentent les caractères de coloration des mitochondries, j'avais formulé l'hypothèse que, dans ces Algues, le chondriome se trouve condensé en un seul organite ou en un très petit nombre d'organites correspondant aux chloroplastes et réunissant toutes les fonctions du chondriome des autres cellules.

Cependant les travaux de Scherrer, Sapehine et Mottier démontrèrent que, dans les Bryophytes, la chlorophylle persiste comme dans les Algues à tous les stades du développement, et que, dans l'oosphère, il existe à la fois des chloroplastes et des mitochondries : les deux catégories d'éléments se transmettent de cellules en cellules à partir de l'œuf. Plus tard, à l'aide de méthodes spéciales, j'ai pu, à mon tour, parvenir à mettre en évidence dans les Chlorophycées et les Diatomées, en dehors des chloroplastes, la présence de mitochondries bien différenciées qui avaient échappé à mes premières recherches [**174**, **175**, **180**].

[1] La forme de chondriocontes qu'affectent la plupart des plastes non chlorophylliens semble avoir été parfois observée par Schimper : mais cet auteur admet alors que cette forme est due à la production d'un cristalloïde de protéine, en forme d'aiguille, au sein du plaste. Mes recherches ont montré que cette interprétation est inexacte, et que les cristalloïdes de Schimper sont, au moins pour la plupart, de simples chondriocontes.

Comment expliquer ces faits en apparence contradictoires? Scherrer et Sapehine n'hésitent pas à considérer les mitochondries et les plastes comme des formations tout à fait différentes. Pour expliquer le cas des Phanérogames, ils admettent que les plastes existent à l'état de petits grains dans les méristèmes et sont en voie d'active division, ce qui leur donne des formes d'haltères. Comme ces plastes ont alors les mêmes dimensions et se colorent de la même manière que les mitochondries qui offrent les formes de grains, de bâtonnets et de filaments, ils se confondraient avec elles. Mais dès que les cellules se différencient, les plastes grossissent et prennent l'aspect de gros corpuscules qui ne permettent plus aucune confusion avec les mitochondries lesquelles conservent leurs dimensions et leurs formes primitives [1]. Scherrer et Sapehine pensent d'ailleurs que les mitochondries ne sont pas des éléments constitutifs du cytoplasme, mais probablement de simples produits de réserve. Cette théorie a été adoptée par Arthur Meyer.

Mottier, qui, à la suite de ses recherches sur les Bryophytes, admet de même l'indépendance des plastes et des mitochondries, mais qui s'appuie aussi sur des observations très exactes sur les cellules de Phanérogames, formule une théorie plus correcte. Pour lui, il existe, dans les Phanérogames, deux catégories d'organites constitutifs du cytoplasme, de mêmes formes et ayant les mêmes caractères histochimiques, doués du pouvoir de se diviser et jouant un rôle dans l'hérédité. L'une élabore de l'amidon et se transforme en chloroplastes ; elle correspond donc aux plastes. L'autre ne présente pas de variations sensibles au cours du développement et correspond seule aux mitochondries. Selon Mottier, il serait possible de distinguer les plastes, même dans les méristèmes, par leurs dimensions toujours légèrement supérieures à celles des mitochondries.

En s'appuyant exclusivement sur des recherches exécutées dans les Phanérogames, Meves a exprimé une théorie exactement opposée à celles de Scherrer, Sapehine et Mottier. L'éminent cytologiste constate que, dans les méristèmes, les techniques mitochondriales révèlent à la fois des chondriocontes et des grains, et que tous les chondriocontes se transforment en chloroplastes, tandis que les grains subsistent après la différenciation des chloroplastes. Il admet que seuls les chondriocontes correspondent aux mitochondries, tandis que les grains ne sont autre chose que des grains de métaplasme. De la sorte, tout le chondriome se transformerait donc en plastes dans les cellules adultes des Végétaux. On pourrait donc admettre que seuls les plastes représentent les mitochondries dans les cellules végétales.

J'ai montré que ces théories ne sont pas plus les unes que les autres d'accord avec les faits [**138, 144, 146, 171, 172, 182, 196, 199, 202, 221**]. La théorie de Sapehine, Scherrer et A. Meyer est insoutenable : elle repose sur des observations incomplètes et sur une connaissance insuffisante de ce qui a été décrit dans les cellules

[1] Le professeur Prenant fait très justement remarquer que les figures représentées par Sapehine, pour les Phanérogames, viennent à l'encontre de sa théorie et paraissent démontrer que les plastes se différencient à partir des mitochondries (Prenant : Analyse du travail de Sapehine: *Année biologique*, 1917, p. 6 .

animales sous le nom des mitochondries. Il est, en effet, démontré par mes recherches que, dans les cellules adultes, tous les plastes dépourvus de chlorophylle conservent les formes caractéristiques des mitochondries et, d'autre part, les travaux de cytologie animale ont fourni la preuve que les mitochondries sont bien des organites constitutifs du cytoplasme. Mes recherches font voir, en outre, contrairement à l'opinion de Mottier, que le chondriome des cellules embryonnaires est tout à fait superposable au chondriome de la cellule animale : il est constitué par des éléments de mêmes dimensions parmi lesquels il n'est pas possible de distinguer ceux qui évolueront en plastes de ceux qui resteront mitochondries (fig. 40 et 41). Enfin, elles établissent que les mitochondries qui ne se transforment pas en plastes ne sont pas exclusivement sous forme de grains, comme l'admet Meves, et que les grains qui ne participent pas à la formation des plastes peuvent prendre souvent, après la différenciation de ceux-ci, l'allure de chondriocontes typiques ; ce sont donc bien des mitochondries (fig. 35).

b) *Présence dans les végétaux chlorophylliens de deux catégories de mitochondries* [**147, 148, 151, 157, 158, 159, 160, 165, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 181, 196, 199, 202, 221**]. — En présence des faits tirés de mes recherches personnelles sur les Phanérogames et sur les Algues, et de ceux obtenus par Scherrer, Sapehine et Mottier sur les Bryophytes, j'ai d'abord pensé que les plastes dériveraient de la différenciation d'une partie des mitochondries des cellules embryonnaires dans les Phanérogames, tandis que, dans les Algues et les Bryophytes, la persistance de la chlorophylle dans l'œuf aurait eu pour conséquence de créer une variété spéciale de mitochondries évoluant parallèlement aux autres [**107, 130, 134, 137, 138, 146**], théorie adoptée par Alvarado.

Cependant, les premiers résultats obtenus par mes élèves, MM. Emberger et Mangenot, sur les Ptéridophytes et sur les Algues, et l'observation très attentive de l'évolution du chondriome dans un certain nombre de racines, m'amena à formuler, dès le début de 1920, une nouvelle théorie, beaucoup plus logique, qui lève toutes les difficultés et s'accorde avec tous les faits tirés de l'étude de l'évolution des plastes dans la série végétale [**147, 148, 151, 157, 158, 159, 160, 165, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 181, 197, 199, 202, 221**].

En observant très attentivement les cellules du méristème de diverses racines, on constate que, même dans les cellules les plus jeunes, il peut y avoir élaboration de petits grains d'amidon. Or, parmi les éléments tout à fait semblables qui constituent le chondriome, il y en a seulement un certain nombre qui élaborent de l'amidon, les autres ne participent pas à ce phénomène. Il paraît donc exister déjà, à ce moment, des éléments prédestinés à l'élaboration de l'amidon (fig. 40 : A). En suivant l'évolution du chondriome, on constate que, pendant la différenciation cellulaire, un certain nombre des éléments du chondriome deviennent un peu plus gros que les autres, tout en conservant les formes caractéristiques des mitochondries, et représentent alors les amyloplastes.

Ceux-ci élaborent, dans leur intérieur, des grains d'amidon composés. Lorsque les

grains sont devenus très gros, l'amyloplaste, n'apparaît plus que comme une mince

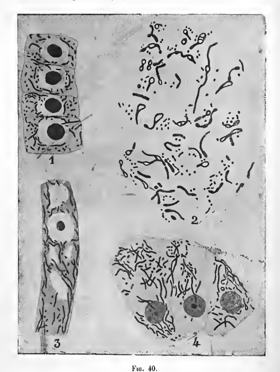


Fig. 40.

1, Cellules du méristème d'une racine de Courge. Le chondriome est constitué par des chondriocontes, de courts bâtonnets et des grains. — 2, Chondriome de cellules du parenchyme cortical de la même racine ; les chondriocontes se sont épaissis et ont une tendance à se segmenter : ils élaborent des grains d'amidon composés. Les mitochondries granuleuses et les courts bâtonnets conservent leurs formes primitives. — 3, Chondriome d'un jeune asque de *Pustularia vesiculosa*. — 4, Chondriome des cellules hépatiques de la Grenouille. On constate que le chondriome de *Pustula vesiculosa* et celui du foie de Grenouille sont absolument semblables à celui de la racine de Courge (Grossissement : 1.500, méthode de Regaud).

pellicule entourant le grain composé et qui est parfois prolongée par une queue, reste du chondrioconte. Lorsque cet amidon est digéré, l'amyloplaste se régénère et reprend

sa forme de chondrioconte. Les amyloplastes ne se détruisent donc pas en fonctionnant et ce sont toujours les mêmes qui fonctionnent [1]. D'autre part, dans une feuille, les chloroplastes se différencient de très bonne heure aux dépens des chondriocontes et une fois formés, ils ne se multiplient que par division et non par différenciation des mitochondries qui subsistent à côté d'eux.

De là vient l'idée que les mitochondries qui constituent le chondriome des cellules des méristèmes, bien que morphologiquement et chimiquement semblables, n'ont pas toutes la même valeur, et que les unes sont déjà prédestinées à une fonction spéciale. Je suis donc arrivé à penser que le chondriome des cellules embryonnaires des Phanérogames est constitué par deux catégories de mitochondries conservant leur individualité pendant l'évolution des cellules : l'une de ces variétés correspondrait aux plastes et pourrait prendre, au cours du développement, des dimensions un peu plus élevées en vertu de sa puissante activité élaboratrice ; l'autre, celle qui persiste avec ses dimensions primitives après la différenciation des plastes (que je désigne provisoirement sous le nom de mitochondries inactives à la photosynthèse), serait affectée à des fonctions encore mal déterminées. Ces deux variétés ont les mêmes formes dans les Phanérogames et il est impossible de les distinguer dans les méristèmes, et même souvent aussi dans les cellules adultes, quand elles sont dépourvues de chlorophylle ; au contraire, par suite de la persistance de la chlorophylle, elles sont toujours distinctes dans certains Cryptogames (Bryophytes et Algues). Enfin, dans certaines Algues (Spirogyres), la variété affectée à la photosynthèse se trouverait condensée en un organe volumineux, unique par cellule, que l'on peut comparer au *nebenkern* des spermatozoïdes de certains animaux, corps mitochondrial résultant de la concrescence de tous les éléments du chondriome.

Envisagés de la sorte, les plastes ne sont plus le résultat de la différenciation des mitochondries ; ce sont des mitochondries d'une lignée spéciale : et, effectivement, quand on suit l'évolution du chondriome chez les Phanérogames, on est frappé de constater que les plastes conservent toujours tous les caractères des mitochondries, et, en général, ne se distinguent réellement des mitochondries inactives, qui coexistent à côté d'eux, que lorsqu'ils sont à l'état de chloroplastes. En ce cas, ils deviennent de gros corpuscules qui ne sont en somme que des mitochondries volumineuses dont les dimensions s'expliquent par le fait qu'ils sont chargés de chlorophylle.

La présence de deux variétés de mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens a été ensuite démontrée par les recherches de MM. Emberger et Mangenot.

c) *Caractères morphologiques et histochimiques des deux variétés de mitochondries* [**160, 172, 174, 197, 198, 199, 202, 221**]. — On pouvait encore objecter, avec

[1] Je n'ai trouvé d'exception à cette règle que dans les cotylédons de graines des Haricot : là, les gros grains d'amidon de réserve, formés avant la maturation de la graine, ne renferment plus aucune trace de paroi mitochondriale. Au moment de la germination, ils sont digérés, tandis que des chloroplastes se différencient aux dépens de plastes restés à l'état de chondriocontes et inactifs jusqu'à ce moment. Ce fait a été étudié avec plus de détail ensuite par mon élève, M. Li-Kouc-Tcheng, puis vérifié par M. Maige.

Mottier, que du fait que les deux catégories d'éléments n'ont pas une commune origine et évoluent séparément, c'est qu'ils n'ont pas la même nature et correspondent à des formations de significations différentes. De récentes recherches de ma part ont eu pour but de démontrer la nature mitochondriale des deux catégories d'éléments : 1° en suivant leur évolution pendant toute la durée du développement des cellules, de manière à m'assurer qu'ils conservent toujours les caractères morphologiques des mitochondries ; 2° en comparant les caractères histochimiques des deux catégories d'éléments, et en m'assurant qu'elles ont l'une et l'autre les caractères des mitochondries de la cellule animale.

Il est en général impossible, contrairement à l'opinion de Mottier, de distinguer les deux catégories de mitochondries dans les méristèmes, parce que si les plastes y revêtent le plus souvent la forme de chondriocontes et les mitochondries inactives, celles de bâtonnets et de grains, on trouve aussi quelques plastes à l'état de grains et de bâtonnets, et quelques mitochondries inactives à l'état de chondriocontes ; il y a d'ailleurs des cas où tout le chondriome est à l'état de mitochondries granuleuses. Il n'en est pas de même dans certaines racines de Courge où les plastes sont exclusivement représentés par des chondriocontes [**172, 198**] et les mitochondries inactives par des grains ou bâtonnets (fig. 40 : 1 et 41 : A). Il m'a donc été possible de suivre séparément, dans ces racines, l'évolution des deux catégories d'éléments, et de m'assurer que toutes deux ont les caractères morphologiques des mitochondries.

Le chondriome des cellules du méristème est constitué par des grains, bâtonnets et chondriocontes de mêmes dimensions qui forment un ensemble absolument superposable au chondriome de la cellule animale (cellules de foie de Grenouille, par exemple) (fig. 40 : 4).

Cependant, en observant attentivement l'évolution du chondriome pendant la différenciation cellulaire, on constate que seuls les chondriocontes représentent les plastes (fig. 41 : *a*). Dans les cellules du cylindre central, ils s'allongent seulement sans subir la moindre différenciation (fig. 41 : *c*). Dans le parenchyme cortical, au contraire, ils s'épaississent notablement et ont une tendance à se segmenter en bâtonnets et en grains (fig. 41 : *b*). Dans l'axe hypocotylé, les chloroplastes qui dérivent également des chondriocontes, offrent l'aspect de gros éléments en forme de filaments, grains et bâtonnets (fig. 41 : *d*).

Les grains et les bâtonnets du méristème, qui représentent les mitochondries inactives, conservent au contraire toujours à peu près les mêmes dimensions au cours du développement, mais leurs formes se modifient : ils prennent parfois l'aspect de chondriocontes typiques et montrent fréquemment des stades de division en forme d'haltères (fig. 41 : *a'*, *b'*, *b''*, *c'* et *d'*).

Les deux catégories d'éléments ont donc les mêmes formes, quand on les regarde pendant l'ensemble du développement des cellules : grains, bâtonnets, filaments ; mais ces formes ne correspondent pas toujours à un stade déterminé du développement et il y a des stades où l'un de ces éléments est à l'état de grains et l'autre à l'état de filaments, ce qui permet de les distinguer parfois. D'autre part, les plastes peuvent prendre, au cours du développement, des formes beaucoup plus volumineuses, ce qui

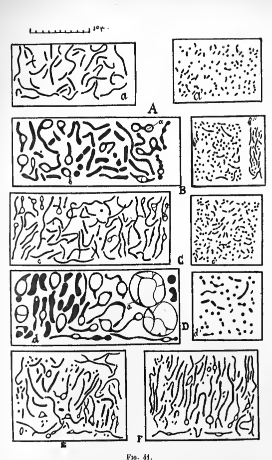


Fig. 44.

A, Chondriome dans les cellules du méristème de la racine de Courge ; on a représenté séparément les amyloplastes (a) et les mitochondries inactives (a'). — B, *Id.*, dans les cellules du parenchyme cortical : *b*, amyloplastes ; a, amidon, *b'* mitochondries inactives ; *b''*, mitochondries inactives prenant dans quelques cas l'aspect de chondriocontes typiques. — C, Chondriome des cellules du parenchyme du cylindre central ; c, amyloplastes ; a, amidon ; c', mitochondries inactives. — D, Chondriome dans les cellules du parenchyme cortical de l'axe hypocotylé : *d*, chloroplastes dont quelques-uns forment de gros grains d'amidon composé (a) ; *d'*, mitochondries inactives. — E, Chondriome du foie de Grenouille. — F, Chondriome des basides de *Psalliota campestris*. Les mitochondries forment, dans les Champignons aussi bien que dans le foie de Grenouille, des vésicules dont on ignore encore la signification. (Méthode de Regaud.)

fait qu'à certains stades, on a l'impression que les cellules renferment deux chondriomes superposés : l'un, formé par de grosses mitochondries, l'autre, par de petites.

Si l'on compare ces deux catégories d'éléments aux mitochondries des cellules du foie de Grenouille (fig. 41 : E), ou à celles d'un Champignon (fig. 41 : F), on constate que ce sont les plastes qui ressemblent le plus aux mitochondries animales et à celles des Champignons. D'une manière générale, les mitochondries inactives sont un peu plus petites que les mitochondries animales et sont plus rarement à l'état de longs chondriocontes. Les plastes ont, en général, les mêmes dimensions que les cellules animales, mais acquièrent dans certaines phases des dimensions beaucoup plus volumineuses.

En reprenant d'une manière très minutieuse l'étude du bourgeon d'*Elodea canadensis* [**189, 196, 198**], que j'avais déjà observé, j'ai pu suivre, depuis les cellules les plus jeunes du méristème de la tige jusqu'aux feuilles de plus en plus développées, l'évolution de ces deux lignées de mitochondries et apporter par conséquent une démonstration rigoureuse de la dualité du chondriome (fig. 42).

L'examen d'une coupe longitudinale de ce bourgeon traité par la méthode de Regaud permet d'observer, dans les cellules du méristème de la tige et des plus jeunes ébauches foliaires, un chondriome tout à fait superposable à celui de beaucoup de cellules animales, constitué par un mélange de chondriocontes et de mitochondries granuleuses ; ces éléments ont moins de 1 μ d'épaisseur (fig. 42 : 2 et 6).

En suivant les ébauches foliaires de plus en plus développées, on peut observer avec la plus grande précision tous les stades de l'évolution du chondriome et constater que les chondriocontes et les mitochondries granuleuses représentent deux lignées distinctes de mitochondries et que ce sont les premiers qui correspondent aux plastes et vont se transformer en chloroplastes. C'est à partir des ébauches foliaires de 160 μ environ de longueur que commence la différenciation des chondriocontes en chloroplastes (fig. 42 : 1, A) : elle se manifeste par un épaississement de ces éléments (fig. 42 : 3 et 4 et 7 à 9). Dans les ébauches foliaires de 200 μ environ, les chondriocontes forment sur leur trajet de petits renflements qui se séparent peu à peu par rupture des parties effilées qui les réunissent, grossissent et prennent l'aspect de gros chloroplastes arrondis ou ovoïdes de 3 μ environ d'épaisseur. Pendant que cette différenciation se poursuit, les mitochondries granuleuses s'allongent d'abord en bâtonnets, puis, dans les cellules adultes, prennent d'ordinaire l'aspect de chondriocontes typiques, mais elles ne participent pas à la formation des chloroplastes, qui, une fois différenciés, ne se multiplient que par division (fig. 42 : 5 et **10** et **11**).

A l'aisselle de chacune des ébauches foliaires, se trouve une petite écaille constituée par un massif de cellules dans lesquelles il n'y a aucune production de chlorophylle : dans ces cellules, le chondriome présente les caractères qu'il offre dans le méristème. On observe les mêmes phénomènes pendant la différenciation de la tige.

Le bourgeon d'*Elodea canadensis* présente donc un très grand intérêt parce qu'on y peut suivre, avec la plus grande précision, à tous les stades du développement, l'évolution des deux lignées de mitochondries qui y ont, dès le début, une forme différente. D'autre part, ces deux lignées d'éléments présentent tous les caractères morphologi-



FIG. 42.

Evolution des deux catégories de mitochondries dans le bourgeon d'*Elodea canadensis* : 1. Bourgeon vu à un petit grossissement, sur le vivant. — A. ébauche foliaire à partir de laquelle commence la différenciation des chloroplastes. — B. Feuille dans laquelle les chloroplastes sont complètement différenciés. — C. Région de la tige où les chloroplastes se différencient. 2. Jeune ébauche foliaire : le chondriome est constitué par des mitochondries granuleuses et des chondriocontes. 3 et 4. Ebauches foliaires un peu plus âgées dans lesquelles les chondriocontes sont en voie de différenciation en chloroplastes. 5. Cellules d'une feuille presque adulte : les chloroplastes sont différenciés et les mitochondries granuleuses sont en partie transformées en bâtonnets ou en chondriocontes. 6, 7, 8, 9, 10 et 11, évolution des deux catégories de mitochondries au cours du développement des feuilles à un fort grossissement. On y voit les chondriocontes se transformer en chloroplastes et les mitochondries granuleuses prendre l'aspect de chondriocontes (méthode de Regaud).

ques et histochimiques des mitochondries : on ne peut donc ne pas les considérer, l'une et l'autre, comme des mitochondries.

Ces recherches ont été complétées par une étude des caractères histochimiques des deux catégories de mitochondries par rapport aux mitochondries des Champignons dont on ne peut contester l'homologation avec les mitochondries animales.

Déjà Cowdry avait fait une étude comparative méticuleuse des caractères morphologiques et microchimiques du chondriome des cellules du pancréas de la Souris et de celui de la racine de Pois où les deux catégories de mitochondries se confondent dans les méristèmes et n'ont pas été distinguées par l'auteur. Cowdry avait conclu à l'identité des mitochondries dans les deux cas, y compris bien entendu celles qui se transforment en plastes. Des observations de même ordre entre le chondriome des Ptéridophytes (y compris les plastes) et celui de divers organes de la Grenouille (rein et foie) avaient été faites par mes élèves MM. Emberger et Mangenot et avaient abouti au même résultat. Mes recherches sur ce point [**160, 174, 199**] ont eu comme objet un examen comparatif aussi minutieux que possible du chondriome des cellules épidermiques des pétales de *Tulipa* où les deux variétés existent et du chondriome d'un *Saprolegnia*, trouvé sur un cadavre de Mouches, et où les mitochondries sont très faciles à observer sur le vivant.

Dans les deux cas, le chondriome présente, en observations vitales, le même aspect morphologique et la même réfringence. Dans la Tulipe, il est constitué par de longs et minces chondriocontes onduleux, parfois ramifiés, qui représentent les plastes et, dans les variétés jaunes, servent de substratum à la xanthophylle, et par des mitochondries inactives en formes de grains ou de bâtonnets (fig. 42 : A). Dans le *Saprolegnia*, il est formé parfois par des grains et des bâtonnets, mais surtout par des chondriocontes très longs, souvent ramifiés et tout à fait semblables aux plastes de Tulipe et que, d'ailleurs, A. Meyer, qui les avait observés, avant la découverte des mitochondries, dans un Champignon du même groupe, avait assimilés à des plastes (fig. 42 : E). Dans les deux cas, le chondriome ne fixe pas les colorants vitaux. En milieu hypotonique, les plastes et les mitochondries inactives de la Tulipe (fig. 42 : B et C), de même que les mitochondries de *Saprolegnia* (fig. 42 : F et G) se transforment rapidement en vésicules, altération bien connue dans la cellule animale (Fauré-Fremiet, R. Lewis). Une température de 45 à 50 degrés suffit à détruire tous les éléments du chondriome de la Tulipe, aussi bien que ceux du *Saprolegnia*, comme l'ont constaté Policard et Cowdry dans la cellule animale.

Le réactif iodo-ioduré conserve, dans les deux cas, les mitochondries et les jaunit. Le chondriome est également conservé, dans les deux cas, par une solution d'acide osmique qui ne brunit pas les mitochondries. Enfin, tous les éléments du chondriome de la Tulipe et ceux du *Saprolegnia* se comportent de même vis-à-vis des fixateurs et se colorent électivement par les méthodes mitochondriales (fig. 43 : D et H).

Si l'on ajoute à ces caractères communs que, pour la cellule animale, les travaux de Prenant et de quelques autres auteurs ont établi que les pigments se forment dans les mitochondries par des processus semblables à ceux de l'élaboration de la xantho-

phylle par les plastes de la Tulipe (fig. 43), on en arrive à la conclusion que ces deux catégories d'organites du cytoplasme des Végétaux chlorophylliens sont, l'une et l'autre, des mitochondries. Ces deux catégories d'éléments passent exactement par les mêmes formes, au cours de leur évolution, mais ces formes sont, en général, différentes à un même stade du développement, ce qui permet de les distinguer.

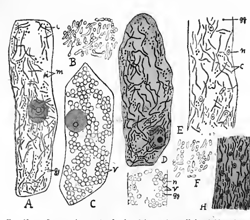


Fig. 43. — Comparaison entre le chondriome des cellules épidermiques des pétales de *Tulipa* et celui d'un *Saprolegnia*

A, Cellule épidermique de Tulipe blanche, sur le vivant : c, chondriocontes représentant les plastes ; *m*, mitochondries inactives ; *gg*, granules lipoïdes. — B, Début de l'altération des chondriocontes de la même cellule sous l'influence d'un milieu hypotonique. — C, Cellule analogue examinée en milieu hypotonique et dans laquelle tout le chondriome est transformé en grosses vésicules (V). — D, Cellule semblable, sur une préparation obtenue par la méthode de Regaud. — E, Filament de *Saprolegnia* observé sur le vivant : *n*, noyau ; *c*, mitochondries sous formes de chondriocontes ou de bâtonnets ; *gg*, granules lipoïdes. — F, Début de l'altération du chondriome d'un filament semblable sous l'influence d'un milieu hypotonique. — G, Portion de filament dans lequel tout le chondriome s'est transformé en grosses vésicules (V) sous l'influence du milieu hypotonique. — H, Filament du même Champignon traité par la méthode de Regaud.

On voit donc qu'il n'y a pas de critérium qui permette d'assimiler, avec Mottier, les mitochondries inactives, plutôt que les plastes, aux formations connues dans la cellule animale sous le nom de mitochondries. Bien au contraire, les plastes par leurs formes de longs chondriocontes ressemblent, en général, davantage aux mitochondries animales qu'aux mitochondries inactives. D'autre part, ces dernières ont incontestablement les caractères des mitochondries dont il n'est pas possible de les séparer avec Meves, car elles affectent également, à certains stades, les formes de chondriocontes typiques (fig. 44 : 3).

Mes recherches montrent donc qu'en réalité ces deux catégories d'éléments ont les

caractères des mitochondries et répondent à la définition des mitochondries : ce sont des organites incapables de se former autrement que par division, en forme de grains, bâtonnets et chondriocontes, pouvant passer de l'une à l'autre de ces formes, et carac-

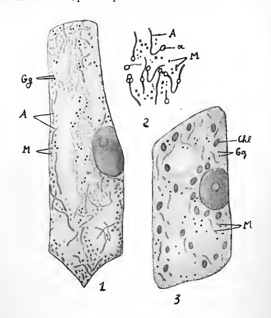


Fig. 44.

1, Cellule épidermique d'une feuille d'*Iris germanica*, sur le vivant. Le chondriome est constitué par des chondriocontes représentant les amyloplastes (A) et par des mitochondries en forme de grains et de bâtonnets (M). On observe, en outre, dans le cytoplasme, de nombreux grains lipoïdes (Gg). — 2, Portion du cytoplasme d'une cellule semblable : les amyloplastes (A) forment de petits grains d'amidon (a). — 3, Cellule du mésophylle de la même feuille ; Chl, chloroplastes dérivés de chondriocontes ; M, mitochondries inactives, en forme de chondriocontes ou de bâtonnets ; Gg, grains lipoïdes. On voit qu'ici les mitochondries inactives affectent la forme de chondriocontes typiques : ce qui montre qu'il n'y a pas de différence de forme entre les mitochondries et les plastes. (Grossissement 1.500).

térisés par tout un ensemble de propriétés physiques et chimiques semblables. Il n'est donc pas possible de les séparer.

Cette théorie a trouvé sa démonstration dans les recherches de MM. Emberger et

Mangenot [1], qui ne laissent plus aucun doute sur l'existence des deux catégories de mitochondries, et démontrent que les formes volumineuses des chloroplastes sont inti-

[1] Dans ses recherches sur les Ptéridophytes, M. Emberger a constaté que, chez les Filicinées, l'oosphère renferme un chondriome tout à fait semblable à celui de la cellule animale dans lequel il n'est pas possible de distinguer les plastes des autres mitochondries. Cependant, dans les cellules du prothalle aux dépens desquelles se constituent les oosphères, on trouve à la fois des chloroplastes et des mitochondries, et, au cours de la formation de l'oosphère, M. Emberger a montré que les chloroplastes perdent leur chlorophylle et prennent peu à peu l'aspect de mitochondries qui se con fondent finalement avec les mitochondries inactives. Dans l'embryon, issu de cette oosphère, les plastes se différencient de nouveau en chloroplastes, dans la tige et dans les feuilles, tandis qu'ils prennent l'état de chondriocontes dans la racine. Dans les cellules épidermiques des feuilles destinées à donner naissance au sporange, on observe à la fois des chloroplastes et des mitochondries inactives. Les chloroplastes perdent leur amidon et leur chlorophylle et prennent, dans la cellule centrale du sporange, l'allure de mitochondries typiques qui se confondent absolument avec les mitochondries inactives dans les jeunes spores, puis ils reprennent le caractère de chloroplastes dès la germination de la spore. Dans les Sélaginelles, M. Emberger a constaté que, dans les cellules du méristème et dans les spores, les plastes sont représentés par un unique organite en forme de filament ou de croissant accolé au noyau, déjà signalé par Sapehine et Dangeard, bien distinct par sa dimension des mitochondries inactives qui coexistent avec lui. Cet organite se divise pour former, dans les cellules adultes, les plastes qui restent d'ailleurs en très petit nombre.

Enfin, les recherches de M. Mangenot ont démontré que les Algues se comportent différemment selon que, chez elles, la chlorophylle persiste à tous les stades du développement ou qu'elle disparaît dans les organes sexuels. Dans le premier cas, les plastes se distinguent, par leur teinte, à tous les stades du développement, y compris dans l'œuf; il y a, par conséquent, toujours coexistence de chloroplastes et de mitochondries. C'est le cas des *Vaucheria* où M. Mangenot a démontré, après Rudolph et Moreau, la présence à tous les stades de gros chloroplastes et de petites mitochondries incolores : ces deux catégories d'organites, malgré la différence considérable de leurs dimensions, offrent des analogies de formes et se divisent en même temps dans certaines phases du développement. C'est aussi le cas des Fucacées, mais ici la chlorophylle perd son intensité dans l'oogone et dans la cellule apicale, et les chloroplastes y affectent la forme de bâtonnets assez semblables à des mitochondries. Le second cas se trouve réalisé par les Floridées et les Characées. Dans les Floridées, les cellules du thalle renferment de gros chloroplastes en forme de rubans, parfois anastomosés en réseaux, et de petites mitochondries. Dans les parties du thalle, peu riches en chlorophylle, ces éléments s'amincissent et prennent la forme de chondriocontes, et dans les rhizoïdes, où il n'y a pas de chlorophylle, il devient impossible de distinguer les plastes des mitochondries inactives. L'oosphère dérive d'une cellule ordinaire du thalle pourvue de gros chloroplastes : on y assiste à une régression de la chlorophylle et conséquemment les plastes prennent bientôt l'allure de mitochondries; l'oosphère montre alors un chondriome dans lequel toute distinction entre plastes et mitochondries est impossible. Dans les cellules du carpogone issues du développement de l'oosphère, on assiste à la différenciation de gros chloroplastes aux dépens de ce chondriome. Chez les Characées, M. Mangenot a trouvé, dans la cellule apicale, de petits chloroplastes et des mitochondries; mais, dans l'oosphère, la chlorophylle fait défaut. M. Mangenot a observé, dans les cellules destinées à former l'oosphère, une régression des chloroplastes qui perdent leur chlorophylle et se transforment en mitochondries granuleuses ou en bâtonnets, lesquels se confondent absolument, dans les jeunes oosphères, avec les mitochondries inactives. Au cours du développement de l'oosphère, une partie des mitochondries granuleuses ou en bâtonnets, représentant les anciens chloroplastes, s'allongent et prennent la forme de chondriocontes typiques, tandis que les mitochondries inactives subsistent à l'état de grains. Les chondriocontes élaborent alors de nombreux grains d'amidon selon le processus bien connu depuis mes recherches, comme l'avait déjà constaté Mirande.

On voit donc que les faits observés par MM. Emberger et Mangenot démontrent qu'il existe une réversibilité entre la forme mitochondrie et la forme plaste : les plastes présentent dans les cellules embryonnaires la forme de mitochondrie et se transforment ensuite en chloroplastes, mais ces organites peuvent perdre leur chlorophylle, redevenir très petits et reprendre leur forme primitive de mitochondrie. Ces phénomènes sont à comparer à ceux que j'ai observés pour les amyloplastes qui, après la

mement liées à la présence de la chlorophylle ; dès que celle-ci disparaît, les chloroplastes reprennent les dimensions et l'aspect caractéristiques des mitochondries.

d. *Conclusions générales de mes recherches*[1] [**170, 173, 174, 196, 197, 198, 202, 221**]. — La série des recherches entreprises à l'aide des méthodes mitochondriales, soit par moi-même sur les Phanérogames et certaines Algues, soit dans mon laboratoire, par mes élèves, sur les Ptéridophytes et les Algues, a donc permis de résoudre d'une manière définitive la question de l'origine et de l'évolution des plastes dans la série végétale.

C'est là un résultat dont on ne saurait nier l'importance : puisque ce sont les plastes qui servent de substratum morphologique à la photosynthèse, cette fonction qui domine toute la physiologie des Végétaux verts. On peut juger par là du progrès considérable apporté en cytologie végétale par l'introduction des méthodes dites mitochondriales.

Il ressort nettement de mes recherches que les Végétaux chlorophylliens possèdent un chondriome constitué par deux catégories de mitochondries, qui conservent l'une et l'autre leur individualité au cours du développement. L'une, spéciale aux Végétaux verts, sert de substratum à la photosynthèse et correspond aux plastes. L'autre, dont les fonctions, qui ne se traduisent par aucune modification de formes, n'ont pu être précisées, mais qui sont probablement aussi liées au métabolisme cellulaire, correspond aux mitochondries des Animaux et des Champignons. Les deux catégories de mitochondries ont des formes originellement identiques et de mêmes caractères histochimiques, mais les unes, correspondant aux plastes, peuvent, au cours de leur évolution, acquérir, grâce à leur puissante activité élaboratrice, des formes transitoires très volumineuses : ce sont alors les chloroplastes dont le volume exagéré est lié à la présence de la chlorophylle.

Ces deux catégories d'éléments mitochondriaux ont donc la même constitution lipoprotéique, mais on doit admettre cependant qu'il existe entre eux une différence d'ordre chimique sans quoi on n'expliquerait pas que l'une ait une fonction qui manque à l'autre : mais cette différence est légère et échappe à notre analyse. La dualité du chondriome est la seule distinction qui existe entre la cellule animale et la cellule végétale verte ; cette dualité est due à l'existence, dans cette dernière, de la fonction chlorophyllienne [**172, 174**].

digestion de l'amidon élaboré à leur intérieur, reprennent la forme de chondriocontes. Ces phénomènes de réversibilité sont seulement moins accusés chez les Phanérogames parce que, dans ces Végétaux, les cellules, une fois différenciées, sont incapables de reprendre les caractères embryonnaires, contrairement à ce qui se passe dans les Végétaux moins évolués.

Depuis, Cholodnyj a observé des phénomènes semblables dans les pseudoracines de *Salvinia natans*. Au début on y trouve des chloroplastes qui ensuite perdent leur chlorophylle et prennent l'aspect de mitochondries. Enfin, les travaux récents de Motte aboutiraient aussi aux faits de même ordre, dans les Muscinées. J'ajoute que M. Noël a observé, dans le chondriome du foie de Rat, des phénomènes assez semblables.

[1] Mes recherches ont été honorées d'une subvention de l'Académie des Sciences sur les fonds Bonaparte (M. Lecomte, rapporteur), ainsi que d'une subvention de la Caisse des recherches scientifiques.

Mes résultats sur la nature et l'évolution des plastes et les théories qui s'en dégagent ont été discutés par certains auteurs et admis par d'autres, notamment par Nihoul, Friederich, Mottier, Cholodnyj. M. Henneguy semble l'adopter dans son petit livre *La vie cellulaire*. En tout cas, elle tend de plus en plus à être admise et l'accord est définitif sur les faits. Personne ne conteste plus que les plastes dérivent d'éléments mitochondries. La controverse porte seulement sur la dualité du chondriome [1].

Je dois faire remarquer, d'ailleurs, que l'opinion des zoologistes a une grande importance : car c'est à eux qu'est due la connaissance des mitochondries. Or, il est intéressant de constater que tous les zoologistes qui ont abordé l'étude de la cellule végétale n'ont eu aucune hésitation à identifier les plastes des Végétaux aux mitochondries animales et parmi eux, l'opinion de Meves, qui a le plus contribué à l'étude des mitochondries, fait autorité.

B. — Mitochondries des Champignons.

[**73, 92, 93, 95, 98, 103, 117, 132, 152, 154, 156, 161, 164, 175, 190, 191, 192**].

C'est à mes premières recherches (1911 et 1912) [**73, 92**] qu'on doit la découverte des mitochondries dans les Champignons.

[1] Bien qu'il n'admette pas la dualité des mitochondries, Meves n'hésite pas à assimiler les plastes aux mitochondries : « Si l'on veut contester l'identité des mitochondries animales et des mitochondries végétales, on peut tout aussi bien, comme l'a fait remarquer Guilliermond, contester celle du noyau » dit-il (Hist. krit. Unters. über die Plastosomen des Pflanzenzellen, *Arch. f. mik. Anat.*, 1917, p. 296). Ailleurs l'éminent cytologiste s'exprime ainsi : « L'opposition de A. Meyer et de son élève Schmidt ne peut avoir aucun poids, car les auteurs n'ont fait aucune observation et argumentent exclusivement sur des théories. » (*Ibid.*, p. 289.)

Dès 1913, mes recherches sur les mitochondries ont fait l'objet d'une flatteuse appréciation de M. Gaston Bonnier que je crois devoir citer ici : « Un autre savant français, Guilliermond, déjà connu par ses belles découvertes sur la structure intime et la reproduction des Champignons, vient de reprendre l'étude des mitochondries chez les Végétaux, et les résultats de ses nouvelles recherches exécutées avec une précision admirable viennent de paraître en 1911, 1912, 1913 ; elles se continuent et, de temps en temps, on peut lire dans les Comptes rendus de l'Académie des Sciences les communications de cet auteur révélant de nouveaux exemples de l'activité des mitochondries à propos des manifestations les plus diverses de la vie. Par la multiplicité des exemples, par les techniques les mieux appropriées, et, entre autres, en suivant la méthode de Regaud, par des figures nombreuses et d'une exécution parfaite, Guilliermond a précisé et étendu les résultats obtenus par W. Schimper (Gaston Bonnier, Chronique scientifique de la *Revue hebdomadaire*, 1913.)

Voici, d'autre part, comment s'est exprimé au sujet de mes recherches sur l'origine des plastes, M. Pensa, dans une conférence faite au Congrès de l'Association des Anatomistes (Turin, 1925, p. 45). Après avoir passé en revue les diverses théories : « Je m'arrêterai plutôt à la théorie de Guilliermond laquelle, à mon avis, se rapproche le plus de la vérité. Je dois observer que la synthèse de M. Guilliermond sur la signification des chondriosomes et des plastides a certainement une grande valeur, surtout parce qu'elle est fondée sur des faits concrets et magistralement observés. »

« Les recherches de Guilliermond sont d'autant plus précieuses qu'elles ont été faites sur des cellules vivantes. » Ainsi s'exprime M. Lubimenko, dans son *Traité de Botanique générale*, Gauthier Willars, 1924, p. 59.

Au moyen de coupes [**73**, **92**, **93**, **117**, **132**], fixées et colorées par la méthode mitochondriale, faites dans les mycéliums de diverses moisissures (*Penicillium glaucum*, *Endomyces Magnusii*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans*, *Mortierella reticulata*, etc.) j'ai observé un chondriome bien caractérisé constitué parfois par des grains, des bâtonnets, mais surtout par des chondriocontes très allongés, onduleux, orientés le plus souvent parallèlement dans le sens de la longueur du filament. Ce chondriome se retrouve dans les conidiophores et dans les conidies du *Penicillium glaucum*, et l'on peut constater, pendant la formation des conidies, l'émigration d'une partie de ses éléments dans les jeunes conidies. La présence d'un chondriome a été observée également dans diverses Levures.

Enfin, j'ai pu suivre l'évolution du chondriome pendant le développement de l'asque de plusieurs Ascomycètes et en particulier chez le *Pustularia vesiculosa* [**92**, **93**, **98**, **103**, **117**], ainsi que dans des lamelles hyméniales de diverses Agaricinées.

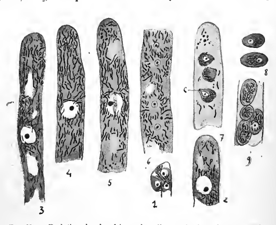


Fig. 45. — Evolution du chondriome dans l'asque de *Pustularia vesiculosa*.

1, Formation de l'asque aux dépens d'un crochet : le chondriome entoure le noyau. — 2 et 3, Asques encore jeunes : beaucoup d'éléments du chondriome affectant la forme de vésicules. — 4, Asque un peu avant la première mitose : les mitochondries ne sont plus vésiculeuses. — 5, Asque pendant la première mitose (plaque équatoriale). — 6, Asque pendant la troisième mitose : les figures de mitose sont vues transversalement. — 7, Formation des ascospores par recourbement des fibres de l'aster. Le chondriome occupe exclusivement le pôle opposé au centrosome (C). — 8, Ascospores plus développées. — 9, Portion d'un asque à la fin de son développement (Méthode de Meves.)

Chez le *Pustularia vesiculosa*, la présence des mitochondries s'observe dans toutes les cellules du plectenchyme et des paraphyses. Ces mitochondries affectent parfois la forme de grains et de bâtonnets, mais sont surtout à l'état de chondriocontes. Dans

les crochets ascogènes, le chondriome est composé par des grains ou des bâtonnets, et surtout des chondriocontes, rassemblés en masse confuse autour du noyau. Lors de la délimitation de l'asque aux dépens d'une cellule binucléée, au sommet du crochet, les deux noyaux sont entourés chacun d'une masse mitochondriale : les deux masses se confondent en une seule au moment de la fusion nucléaire (fig. 45 : 1). Pendant la période de croissance de l'asque, le chondriome se dissémine dans tout le cytoplasme, et se présente surtout à l'état de longs et minces chondriocontes orientés dans le sens de la longueur de l'asque. Ces éléments offrent presque tous, sur leur trajet, de petites vésicules qui rappellent tout à fait les vésicules que l'on observe dans les chondriocontes amylogènes des racines de Phanérogames et qui sont déterminées par la présence dans ces éléments de petits grains d'amidon non colorés par les méthodes mitochondriales (fig. 45 : 2 et 3).

Plus tard, lorsque l'asque a achevé sa croissance et un peu avant la première mitose, ces chondriocontes perdent leurs vésicules (fig. 45 : 4). Au cours des mitoses successives de l'asque, on constate que les éléments du chondriome se trouvent répartis dans le cytoplasme, sauf dans les régions occupées par les asters des noyaux en mitose, lesquelles sont toujours dépourvues de mitochondries (fig. 45 : 5 et 6). Lors de la délimitation des ascospores par recourbement des fibrilles de l'aster de chacun des noyaux, les chondriocontes s'accumulent en grande quantité autour du noyau, mais seulement au pôle opposé au centrosome (fig. 45 : 7) ; dans le pôle occupé par l'aster, les mitochondries font entièrement défaut. Ce n'est qu'après la disparition de l'aster et lorsque l'ascospore a déjà formé sa membrane cellulosique que les éléments du chondriome se répartissent dans tout le cytoplasme (fig. 45 : 8 et 9). Après la formation des ascospores, il ne subsiste, dans l'épiplasme, qu'un très petit nombre de mitochondries.

Dans les lamelles hyméniales des Agaricinées, et notamment dans le *Psalliota campestris* [**95, 98, 117**], toutes les cellules du pseudoparenchyme renferment un chondriome constitué par des grains, des bâtonnets et des chondriocontes, très fréquemment vésiculeux. Dès leur naissance, les basides montrent un chondriome très riche, formé surtout par de longs chondriocontes présentant souvent sur leur trajet de grosses vésicules. Le chondriome se retrouve dans les basidiospores.

La présence très fréquente de mitochondries vésiculeuses [**95, 98, 117**] et de chondriocontes pourvus de vésicules sur leur trajet et la ressemblance si étroite de ces figures avec celles qui se rapportent dans les Phanérogames à l'élaboration de l'amidon par les mitochondries, avaient attiré mon attention. Comme ces vésicules apparaissent, dans l'asque de *Pustularia vesiculosa*, pendant les phases d'élaboration des produits de réserve de l'épiplasme, c'est-à-dire dans la période qui précède la première mitose, pour disparaître ensuite, j'avais pensé qu'elles pouvaient représenter la phase d'élaboration des corpuscules métachromatiques qui émigreraient ensuite dans les vacuoles et s'y dissoudraient, opinion adoptée ensuite par Beauverie, Lewitsky et Moreau. J'ai dû depuis renoncer à cette manière de voir, à la suite des travaux de Dangeard, qui a suivi sur le vivant la formation de la métachromatine, et après les observations vitales qu'à mon tour j'ai pu réaliser dans certains Champignons [**149, 154**]. Il est cependant très

vraisemblable d'admettre que la présence de ces vésicules, à des stades déterminés du développement des cellules, témoigne d'une fonction que je n'ai pas pu déceler, mais mes observations ne m'ont pas permis de mettre en évidence d'une manière précise le rôle du chondriome dans les Champignons.

Au cours de recherches plus récentes, j'ai trouvé des Champignons favorables aux observations vitales, ce qui m'a permis de contrôler les faits constatés à l'aide des méthodes mitochondriales.

J'ai pu, dans certains cas favorables, distinguer, sur le vivant, le chondriome du mycélium de l'*Endomyces Magnusii* [**152, 154, 175**]; celui-ci apparaît surtout sous forme de chondriocontes, disposés le long des articles, entremêlés à quelques rares mitochondries en forme de grains et de bâtonnets. On peut arriver à colorer vitalement, d'une manière diffuse, le chondriome, en faisant séjourner pendant une heure environ le Champignon dans une solution très diluée de violet de Dahlia. Une double coloration vitale m'a permis d'obtenir à la fois une coloration du système vacuolaire par le rouge neutre et du chondriome par le violet de Dahlia, et j'ai pu ainsi constater que la métachromatine se forme directement dans les vacuoles, sans que le chondriome participe à cette élaboration [**154, 175**].

D'autre part, en examinant le Champignon dans le réactif iodo-ioduré, j'ai pu m'assurer que le chondriome n'a pas de rôle direct dans la production du glycogène, qui apparaît directement dans le cytoplasme, à l'état de plages, autour des vacuoles, et peut même se diffuser dans le suc vacuolaire où il se précipite sous forme de grains [**175**]. On ne constate pas non plus de relations entre le chondriome et les globules d'huile qui se forment abondamment dans le mycélium ; ceux-ci naissent directement dans le cytoplasme à l'état de petits grains qui se fusionnent ensuite et forment de gros globules [**154** et **175**].

Un *Saprolegnia* [**156, 161, 164**], trouvé par hasard sur des cadavres de Mouches, m'a offert un objet d'étude vitale très remarquable, aussi favorable que les cellules épidermiques de *Tulipa* et d'*Iris* (voir p. 69). Le chondriome y est constitué par des grains, mais surtout par de longs chondriocontes, parfois bifurqués. Ces chondriocontes peuvent s'altérer au cours des observations vitales et se transformer en grosses vésicules (fig. 34).

Dans des recherches plus récentes [**190, 191**], j'ai trouvé sur des cadavres de Poissons deux formes de Saprolégniacées, l'une se rapportant au genre *Achlya* et l'autre au genre *Leptomitus* qui m'ont fourni l'occasion de compléter mes recherches antérieures sur la cytologie du *Saprolegnia* dont il vient d'être question. Les deux formes se sont montrées aussi favorables à l'observation vitale et m'ont offert toutes deux la même structure que l'espèce précédente. J'ai pu y suivre toute l'évolution du chondriome à la fois sur le vivant et après traitement par les techniques mitochondriales. Dans les extrémités des filaments en voie de croissance, le chondriome est ordinairement constitué par des mitochondries granuleuses, assez grosses, qui très rapidement prennent l'aspect d'abord de bâtonnets courts et trapus, puis de chondriocontes très allongés et très minces, disposés selon le sens de la longueur du filament de telle sorte que c'est exclusivement à l'état de chondriocontes que le chondriome se présente dans

la majeure partie des filaments. Ces formes successives du chondriome semblent indiquer que les chondriocontes résultent de l'étirement, sous l'influence des courants cytoplasmiques, des mitochondries granuleuses (fig. 46).

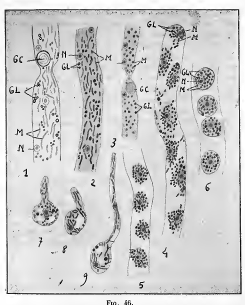


Fig. 46.
Cytologie d'un *Leptomitus* (Saprolégniacée).

Ces Champignons m'ont permis également de suivre, avec une grande précision, la formation des zoospores et le comportement du chondriome pendant ce phénomène : ce que je n'avais pu faire dans mes recherches antérieures sur le *Saprolegnia*. Les zoospores apparaissent dans les extrémités de filaments pourvues d'un grand nombre de noyaux et dans lesquelles le chondriome se trouve exclusivement à l'état de mitochondries granuleuses. On assiste, dans ces filaments, à un groupement des mitochondries autour de chacun des noyaux; puis le cytoplasme condensé autour de ceux-ci se sépare en autant de zoospores qu'il y a de noyaux qui s'entourent bientôt d'une membrane. Chaque zoospore renferme un chondriome exclusivement formé de mito-

chondries granuleuses. Dès le début de la germination, ces mitochondries, en s'introduisant dans le tube germinatif, s'allongent en bâtonnets, puis en chondriocontes.

Deux faits importants se dégagent de mon étude sur les Saprolégniacées. Tout d'abord, je n'ai pu constater à aucun moment de participation du chondriome dans l'élaboration des produits du métabolisme (graisses, glycogène, etc.), ce qui, joint aux observations que j'ai faites sur les mitochondries dites inactives des Végétaux chlorophylliens, paraît démontrer que le rôle élaborateur attribué aux mitochondries des cellules animales a été très exagéré. Ces faits m'amènent à adopter une hypothèse de Nageotte qui consiste à considérer les mitochondries comme des agents de catalyse : ce qui cadre avec ce que l'on connaît du rôle des plastes chlorophylliens; cette hypothèse permet d'expliquer que, dans la plupart des cas, le rôle des mitochondries ne se traduit par aucune attitude morphologique spéciale.

En second lieu, j'ai suivi avec la plus grande précision, sur le vivant, le chondriome pendant tout le développement de ces Champignons, de la germination des zoospores à la formation des zoosporanges : et n'ai jamais observé une seule région du cytoplasme qui soit dépourvue de mitochondries. Comme les mitochondries ne subissent pas de variations sensibles de quantité et ont le pouvoir de se diviser, il y a donc lieu de penser qu'elles conservent leur individualité au cours du développement et ne se multiplient que par division.

J'ai également fait une étude vitale du chondriome d'une Levure, le *Saccharomycodes Ludwigii* [**192**].

Depuis mes premières recherches, la présence du chondriome a été confirmée, dans la plupart des Champignons, par Rudolph (*Achlya*), Janssens, Van de Putte et Helsmortel (*Pustularia vesiculosa* et Levures), Lewitsky (Péronosporacées), Beauverie et Me Moreau (Urédinées), Beauverie (*Psalliota campestris*), F. Moreau (Mucorinées), Bezzonoff (Ascomycètes), Vonwiller, Cowdry et Lewitsky (Myxomycètes).

C. — Mitochondries et symbiotes.

[**140**]

Diverses recherches récentes avaient orienté, il y a quelques années, la question des mitochondries dans une voie nouvelle : on avait pensé, en raison de leurs formes bactériennes si caractéristiques, que les mitochondries représentaient des Bactéries vivant en symbiose dans le cytoplasme (Galippe, Portier, Eriksson, Wallin). A la suite de ses remarquables recherches sur les symbiotes, M. Portier a soutenu une théorie fort intéressante qui consiste à admettre la présence, dans toute cellule, de Bactéries symbiotes jouant un rôle indispensable dans l'assimilation. Ces symbiotes correspondraient, selon M. Portier, aux mitochondries. Je n'ai jamais partagé cette opinion, qui, d'ailleurs, aujourd'hui, semble abandonnée, et j'ai indiqué les raisons qui montrent que les mitochondries ne sont pas des symbiotes.

Les mitochondries ont évidemment une grande ressemblance de formes avec les Bactéries et partagent avec elles le pouvoir de se diviser, mais ce pouvoir leur est commun avec les centrosomes et les chromosomes, et cette ressemblance de formes entre les mitochondries et les Bactéries n'aurait de valeur que si elle était accompagnée d'une ressemblance physico-chimique. Or, les mitochondries ont une sensibilité extrême vis-à-vis des actions osmotiques, de la température, de l'alcool et de l'acide acétique, que n'ont pas les Bactéries. D'autre part, le fait que les Bactéries symbiotes qui se rencontrent dans certaines cellules se colorent par les méthodes mitochondriales ne prouve rien ; ces méthodes ne sont pas, en effet, spécifiques, et les caractères de fixation sont beaucoup plus importants, pour caractériser les mitochondries, que la coloration. Des objections du même ordre ont été faites par MM. Regaud, Laguesse et Auguste Lumière. Depuis les recherches de Cowdry, de Duesberg et de l'un de mes élèves, M. Milovidov, ont fait connaître des méthodes qui permettent de colorer d'une manière différente, dans une même cellule, les Bactéries symbiotes et les mitochondries. La méthode utilisée par M. Milovidov a donné, dans les cellules de nodosités des Légumineuses qui renferment ces bactéries symbiotes, de superbes préparations.

D. — Coloration vitale du Chondriome.

[**190, 192, 194, 198**]

L'étude des Saprolégniacées [**194**] m'a conduit à étudier le comportement des mitochondries vis-à-vis des colorants vitaux. On sait que les mitochondries ne se colorent vitalement qu'assez difficilement et seulement par un petit nombre de colorants spéciaux (violet de Dahlia, vert Janus, violet de méthyle 5B et bleu de Pyroll). Le vert Janus seul nous a permis de colorer rapidement le chondriome des Saprolégniacées ; les autres colorants n'ont donné aucun résultat, sans doute parce qu'ils pénètrent trop lentement à travers la membrane. Le vert Janus produit de très belles colorations des chondriocontes, mais les altère très rapidement en déterminant leur gonflement et leur transformation en grosses vésicules. Il ne peut donc être d'un grand secours pour l'observation du chondriome et l'on doit préférer l'examen direct, sans coloration.

J'ai étendu mes observations à d'autres Végétaux, notamment au *Saccharomyces Ludwigii* [**192**] et aux cellules épidermiques de Tulipe et d'*Iris germanica* [**194, 199**]. Le violet de Dahlia et le vert Janus m'ont donné, après un temps plus ou moins long, la coloration du chondriome du *S. Ludwigi* qui se présente généralement sous forme de longs chondriocontes. Dans les cellules épidermiques de Tulipe et d'Iris, la pénétration du violet de Dahlia est très difficile, en raison d'une membrane épaisse qui enveloppe ces cellules : le violet de Dahlia a pénétré plus rapidement que le vert

Janus et une différence s'est montrée entre les deux lignées de mitochondries : les plastes se sont colorés plus lentement que les mitochondries et plus facilement par le violet de Dahlia que par le vert Janus. Le violet de méthyle nous a fourni les mêmes résultats que le violet de Dahlia ; par contre, le bleu pyrol n'a jamais donné de coloration.

Mes recherches montrent que, d'une manière générale, la coloration du chondriome semble bien s'effectuer dans la cellule vivante, mais qu'elle est rapidement suivie de l'altération du chondriome et de la mort des cellules. Elles établissent en outre que le vert Janus et le violet de Dahlia ne sont pas des colorants absolument spécifiques du chondriome, car ils peuvent colorer également, quoique beaucoup moins électivement, les précipités du vacuome.

E. — Instabilité de forme et individualité des mitochondries.

[200, 215]

Les observations faites dans les cultures de tissus et au moyen de microdissection dans les cellules animales ont amené certains auteurs, entre autres R. et H. Lewis, Chambers et G. Levi, à mettre en cause la permanence des mitochondries. Ces auteurs ont montré que les mitochondries ont des formes extrêmement instables qui se modifient sans cesse sous les yeux de l'observateur, que les chondriocontes peuvent se décomposer en grains et les grains se fusionner pour constituer des filaments et que le nombre des mitochondries varie beaucoup dans une cellule d'un instant à l'autre. Ils en ont conclu que les mitochondries n'ont pas l'individualité qu'on leur a attribuée, mais représentent de simples produits de la gélification du cytoplasme. Cette conclusion est en contradiction avec les résultats obtenus par l'observation vitale du chondriome des cellules végétales et notamment des Saprolégniacées où j'ai pu suivre le chondriome pendant tout le développement et constater que les mitochondries sont toujours présentes et paraissent se multiplier au cours du développement exclusivement par division.

A la suite de ces travaux, j'ai cru nécessaire de profiter du matériel exceptionnellement favorable que m'offraient les Saprolégniacées pour reprendre cette importante question de cytologie générale. Pour cela, j'ai utilisé un *Saprolegnia* cultivé à l'état de pureté dans une solution de peptone à 1 0/0 par mon élève M. Chaze. Des fragments du mycélium étaient prélevés délicatement et montés dans une goutte de la solution de peptone, puis on observait au microscope, aussi longtemps que possible, un filament dans lequel le chondriome était particulièrement net. L'observation m'a montré que les chondriocontes, dont le chondriome est presque exclusivement formé, se déplacent continuellement, entraînés par les courants cytoplasmiques, en sorte qu'il est impossible de suivre les modifications qui se produisent même en un

court laps de temps dans une région déterminée du filament. Aussi ai-je dû procéder autrement : je choisissais un endroit où se trouvait un chondrioconte bien distinct et suffisamment séparé des autres pour ne pas être confondu avec eux et je prolongeais

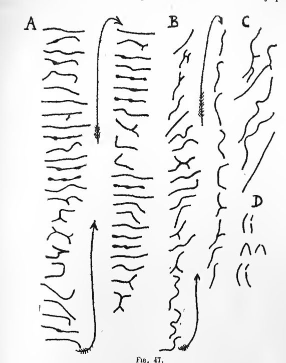


Fig. 47.

A et B, différentes formes prises par un chondrioconte observé pendant une demi-heure, dans *Saprolegnia*; C, pendant 5 minutes ; D, segmentation d'un chondrioconte dans *Elodea canadensis*.

l'observation de ce même chondrioconte aussi longtemps que possible. En prolongeant ces observations pendant une demi-heure et en les multipliant, j'ai pu constater que le déplacement des chondriocontes s'effectue d'une manière irrégulière et sacca-

dée ; il est en général très lent, parfois, il s'accélère brusquement, puis s'arrête et recommence bientôt. Le chondrioconte se déplace dans un sens, puis revient à son point de départ et reprend une direction inverse. Au cours de son développement, le chondrioconte modifie sans cesse sa forme : il passe de l'aspect rectiligne aux formes sinueuses les plus variées. Il peut s'épaissir en se raccourcissant et s'allonger en s'amincissant, former sur son trajet de petits renflements vésiculeux qui disparaissent bientôt. Enfin, très fréquemment, il est capable de se ramifier. Une observation attentive montre que la ramification n'est pas due, en général, à l'anastomose de deux chondriocontes qui se rencontrent, mais à l'action, sur un même chondrionconte, de courants dirigés en sens inverse ou d'un obstacle rencontré par le chondrioconte sur son trajet, ce qui indique que le chondrioconte est constitué par une substance semi-fluide très plastique. Ces ramifications sont, d'ailleurs, transitoires et on les voit se former et disparaître sous le microscope. Mes observations ne m'ont jamais permis de constater la fusion des chondriocontes, ni la résorption de ces éléments, ni l'apparition *de novo* des chondriocontes, ni aucune variation sensible dans le nombre de ces éléments dans une région déterminée.

J'ai étendu mes observations aux cellules des feuilles d'*Elodea canadensis* dans lesquelles on observe à la fois de gros chloroplastes et des mitochondries à l'état granuleux et à l'état de chondriocontes. Les chondriocontes présentent les mêmes variations de formes que dans le *Saprolegnia*, avec cette différence qu'il est beaucoup moins facile de les observer par suite de leurs déplacements beaucoup plus rapides. Par contre, les mitochondries granuleuses se sont montrées beaucoup moins sensibles à l'effet des courants cytoplasmiques et je n'ai pu observer sur eux aucune modification de forme. Il est assez facile de comprendre que les courants du cytoplasme agissent moins sur des éléments granuleux que sur des éléments filamenteux. Dans aucun cas, je n'ai pu observer de fusion de mitochondries, mais seulement des groupements transitoires de ces éléments. Par contre, il m'a été possible de suivre, sous le microscope, tous les stades de la division des mitochondries. Cette division commence par un allongement de la mitochondrie qui prend l'aspect d'une haltère dont la partie effilée, qui relie les deux renflements, s'amincit de plus en plus. Ce n'est qu'après un temps assez long que cette partie effilée se rompt sous l'influence d'un courant. Les cellules d'*Elodea* peuvent être observées vivantes pendant plusieurs heures sous le microscope et l'on peut se rendre compte, au cours d'observations prolongées sur une même cellule, qu'il ne se produit aucune modification sensible ni dans la forme des mitochondries, ni dans leur nombre.

Mes observations sur ces mêmes feuilles m'ont donné l'occasion d'étudier aussi le comportement des chloroplastes et de suivre leurs divisions. Ces éléments se déplacent également sous l'influence des courants cytoplasmiques et se divisent par un processus analogue à celui par lequel se divisent les mitochondries.

Ces observations, faites sur un matériel exceptionnellement favorable et dans des conditions très précises qui ne paraissent pas pouvoir être réalisées pour les cellules animales, montrent donc que, si les mitochondries ont des formes très instables, elles

paraissent néanmoins conserver leur individualité au cours du développement. Tous les faits sont ainsi favorables à l'idée que les mitochondries sont des éléments permanents, ne se multipliant que par division. On sait, d'autre part, que los travaux récents qui ont été faits sur les plastes ont fourni la preuve rigoureuse que ces éléments conservent toujours leur individualité et se transmettent par division de cellule en cellule. Le fait que, dans l'*Anthoceros*, il n'existe dans chaque cellule qu'un seul plaste, en forme de croissant, généralement accolé à la paroi du noyau et un peu plus gros que les mitochondries et que ce plaste se transmet régulièrement par division de cellule en cellule à partir de l'œuf, apporte la preuve la plus rigoureuse do la permanence des plastes. Ce plaste offre d'ailleurs tous les caractères des plastes très nombreux que l'on trouve dans les cellules des autres Végétaux et l'on est obligé de l'assimiler à eux. Or, comme les plastes ont en général les mêmes formes et montrent toujours la même constitution chimique que les mitochondries et peuvent être considérés comme une catégorie spéciale de mitochondries, il n'y a pas de raison de supposer que ces dernières ne conservent pas leur individualité comme cela est démontré pour les plastes et l'on peut trouver là un nouvel argument en faveur de la permanence des mitochondries.

II. — VACUOME OU APPAREIL VACUOLAIRE

A — Caractères et évolution du Vacuome.

a) *Evolution du vacuome et sa distinction du chondriome* [**135, 136, 146, 150, 155, 157, 159, 165, 168, 169, 170, 173, 175, 178, 179, 182, 183, 184, 187, 190, 191, 196, 199, 202, 203**]. — Mes travaux les plus récents ont contribué, pour une très large part, à la connaissance de l'évolution de l'appareil vacuolaire de la cellule végétale. L'évolution des vacuoles était restée à peu près inconnue jusqu'à ces dernières années où les importantes recherches de M. Dangeard ont éclairé cette question d'un jour nouveau.

Rappelons qu'à la suite des travaux de de Vries et de Went, on a considéré pendant longtemps les vacuoles des cellules végétales comme des organites constitutifs de la cellule incapables de se former *de novo* et se transmettant par division de cellule en cellule. Pour de Vries, les vacuoles étaient pourvues d'une membrane différenciée et douée de la fonction de sécréter certaines substances qui s'accumulent dans le suc vacuolaire. On a donc rapproché les vacuoles des plastes en les considérant, en quelque sorte, comme des plastes liquides (tonoplastes de de Vries et hydroleucites de Van Tieghem), mais cette conception, qui ne s'appuyait sur aucun fait solidement établi, n'a pas été admise par la majorité des botanistes qui fournissaient la preuve expérimentale de la néoformation des vacuoles sous certaines actions physiques.

D'autre part, la notion de vacuoles dans les cellules animales était à peu près inconnue et dans le *Traité de Cytologie* de Prenant il n'est même pas question des vacuoles.

J'ai, pour la première fois (1913) [**94**], fait connaître le mode de formation de l'anthocyane. L'observation vitale des jeunes feuilles de Rosier m'a permis de démontrer que ce pigment apparaît sous formes d'éléments morphologiquement semblables à des mitochondries. J'avais donc cru pouvoir admettre, au début de mes recherches, (alors que l'évolution du système vacuolaire était encore inconnue), que les pigments anthocyaniques ont une origine mitochondriale : les mitochondries se seraient imprégnée d'anthocyane pour ensuite se transformer en vacuoles remplies de ce pigment. Cette conclusion paraissait d'autant plus légitime que les autres pigments végétaux naissent dans des mitochondries et que les travaux de Prenant venaient de montrer que les pigments animaux se forment de la même manière. Les préparations vitales de feuilles

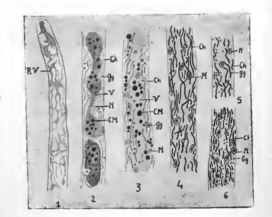


Fig. 48. — Chondriome et système vacuolaire dans un *Saprolegnia*.

1, Extrémité de filament observé sur le vivant avec coloration par le rouge neutre. On y voit le système vacuolaire coloré et affectant la forme d'un réseau. Pour ne pas compliquer le dessin, on n'a figuré ni le chondriome, ni les noyaux. — 2, Filament un peu plus âgé, coloré vitalement par le rouge neutre. Le réseau vacuolaire tend à se transformer en un canal (V). Son contenu est tout entier coloré et montre en outre des corpuscules (CM) plus fortement colorés. Le chondriome n'est pas coloré, mais se distingue nettement (Ch) : N, noyaux ; Gg, Granules lipoïdes. — 3, Filament plus âgé : le système vacuolaire est transformé en un large canal central (V). — 4, Filament traité par la méthode de Regaud. Les grains lipoïdes ne sont pas colorés. — 5 et 6, Filaments traités par la méthode de Meves-Kull ; les grains lipoïdes (Gg) sont brunis par l'acide osmique.

de Rosier que j'avais montrées au Congrès des Anatomistes (Lausanne, 1913) avaient d'ailleurs entraîné la conviction de tous les cytologistes qui s'y trouvaient. Le mode de formation de l'anthocyane est général et a été retrouvé, depuis, par un grand nombre

d'auteurs dans les Végétaux les plus divers. Il est donc indiscutable que l'anthocyane présente à son origine des formes morphologiquement semblables à des mitochondries. Mais les recherches ultérieures ont démontré que mon interprétation n'était pas exacte.

Les travaux de Pensa ont fait voir, en effet, que les figures mitochondriales de

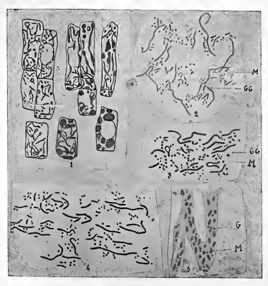


Fig. 49.

1, Cellules d'une très jeune feuille d'*Iris germanica*, colorées vitalement par le rouge neutre et montrant tous les stades de la formation des vacuoles : celles-ci apparaissent d'abord sous forme de filaments et de grains colorés par le rouge neutre, puis ces éléments grossissent et s'anastomosent en réseau; le réseau se décompose ensuite en vacuoles arrondies. — 2, Portion du cytoplasme d'une cellule de feuille d'*Iris germanica* adulte avec mitochondries (M) et granules lipoïdes (GG). — 3, Même cytoplasme traité par la méthode de Meves-Kull : les granules lipoïdes sont brunis par l'acide osmique. — 4, Même cytoplasme traité par la méthode de Regaud. Le chondriome est seul coloré et les grains lipoïdes ne sont pas différenciés. — 5, Portion de cytoplasme d'un Protozoaire (*Loxodes rostrum*), d'après Fauré-Frémiet, montrant, sur le vivant, ses mitochondries (M) et des grains réfringents (G), probablement identiques aux grains lipoïdes des Végétaux.

l'anthocyane ne se conservent pas par les méthodes mitochondriales et ne paraissent par conséquent pas être des mitochondries. Les études de Dangeard ont démontré, d'autre part, que le système vacuolaire, dans les cellules jeunes, apparaît toujours, après coloration vitale, sous formes d'éléments semblables à des mitochondries, et que

le mode de formation de l'anthocyane n'est qu'un cas particulier du processus général de formation des vacuoles.

Par des observations sur les Champignons, à l'aide de colorants vitaux (bleu de Crésyl), Dangeard a démontré que la métachromatine se trouve ordinairement à l'état de solution colloïdale dans les vacuoles et que les corpuscules métachromatiques sont le plus souvent le résultat d'une précipitation de cette solution sous l'influence des colorants vitaux ou des fixateurs. Or, en observant à l'aide de coloration vitale l'origine des vacuoles dans les jeunes filaments, Dangeard a vu que celles-ci apparaissent d'abord sous formes d'éléments semblables aux mitochondries, constitués par de la métachromatine en solution très concentrée. Ces éléments ensuite se gonflent par absorption d'eau, s'anastomosent en réseaux qui finalement, par fusionnement, arrivent à constituer de grosses vacuoles renfermant de la métachromatine en solution très diluée.

En observant par le même procédé l'apparition des vacuoles dans diverses Phanérogames, l'auteur a constaté que les vacuoles renferment également de la métachromatine et apparaissent de la même manière que dans les Champignons.

La métachromatine serait donc présente dans les vacuoles de toute cellule et jouerait, selon Dangeard, un rôle essentiel dans la physiologie cellulaire : elle agirait comme électivine et osmotine. Dans les cellules qui renferment de l'anthocyane, ce pigment apparaîtrait directement dans de jeunes vacuoles de formes mitochondriales ou à un stade quelconque de l'évolution des vacuoles ; elle serait formée dans le cytoplasme, puis fixée par la métachromatine comme les colorants vitaux.

Dangeard a donné le nom de *vacuome* à l'ensemble de vacuoles contenues dans une même cellule, nom qui a été universellement accepté.

Impressionné, comme je l'avais été dans mes recherches sur la formation de l'anthocyane, par la ressemblance que présentent les jeunes vacuoles avec les mitochondries, Dangeard a été amené à formuler une hypothèse de travail qui consiste à admettre que ce qui a été décrit dans la cellule animale et dans les Champignons sous le nom de chondriome pourrait correspondre à certaines phases du vacuome. Le chondriome n'aurait ainsi aucune relation avec les plastes.

Cette hypothèse a été le point de départ d'une série de recherches et soulevait un problème qu'il était nécessaire de résoudre : celui des relations entre le vacuome et le chondriome. C'est cette question sur laquelle ont d'abord porté mes études sur le vacuome.

Mes recherches, effectuées sur les Champignons et sur les Phanérogames, ont confirmé les importants résultats de Dangeard sur l'évolution du vacuome. Par contre, elles ne m'ont pas permis de vérifier l'hypothèse de ce savant sur les relations entre le vacuome et le chondriome et par là même m'ont amené à renoncer à mon opinion sur l'origine mitochondriale de l'anthocyane qui prend naissance dans le vacuome. Mes recherches ont apporté la démonstration que les formes d'allure mitochondriale du vacuome n'ont rien de commun avec le chondriome et que le chondriome et le vacuome sont deux systèmes absolument indépendants qui se superposent.

Dans les Champignons [**119**, **132**, **149**, **152**, **154**, **156**, **161**, **164**, **175**], les

corpuscules métachromatiques s'observent bien sur le vivant, sans coloration vitale, mais en nombre infiniment moins considérable qu'au moyen de celle-ci ou qu'après fixation. En observant au microscope la coloration vitale des vacuoles, on constate l'apparition de corpuscules métachromatiques qui se forment sous l'influence du colorant. La métachromatine est donc bien, en général, à l'état de solution colloïdale, comme l'a montré Dangeard.

En ce qui concerne les vacuoles, mes observations établissent que, dans la majorité des Champignons, celles-ci apparaissent dans les extrémités des filaments sous forme de minuscules vacuoles rondes, remplies de métachromatine, généralement un

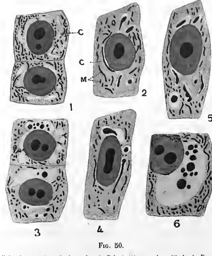


Fig. 50.

Cellules du méristème de la racine de Pois traitées par la méthode de Regaud. Le chondriome est différencié (*m*) et le vacuome apparait d'abord sous forme de canalicules incolores (canalicules de Holmgren) (C) renfermant parfois des filaments sidérophiles résultant de la condensation de leur contenu. Les canalicules se fusionnent ensuite les uns avec les autres pour donner finalement une seule grosse vacuole qui renferme des corpuscules sidérophiles (fig. 6) ; les cellules 2, 4 et 5, représentent des cellules du cylindre central, les autres appartiennent à l'écorce

peu plus grosses que les mitochondries et qui ne leur ressemblent pas. Souvent elles se colorent, d'abord, d'une manière homogène et intense, par le rouge neutre et paraissent avoir une consistance semi-fluide, puis elles s'hydratent et apparaissent comme de petites vacuoles liquides dans lesquelles le rouge neutre détermine la précipitation de la

métachromatine sous forme d'un corpuscule fortement coloré et animé de mouvements browniens. Assez fréquemment les vacuoles apparaissent directement sous cette forme. Quoi qu'il en soit, ces vacuoles se gonflent, puis se fusionnent, pour constituer de grosses vacuoles que le rouge neutre colore d'une manière diffuse en déterminant la précipitation de la métachromatine sous forme de nombreux corpuscules vivement colorés. Cependant dans un assez grand nombre de Champignons (Mucoracées, Saprolégniacées), les vacuoles offrent, à leur origine, l'aspect de minces filaments plus ou moins anastomosés et formant souvent, dans le cytoplasme, un réseau qui se colore uniformément et d'une manière intense par le rouge neutre. Ces figures filamenteuses et réticulaires ne rappellent cependant que d'une manière très vague le chondriome et il n'est pas difficile de les en distinguer. Les filaments du réseau en se gonflant et en se fusionnant finissent par constituer ensuite de grosses vacuoles dans lesquelles apparaissent de nombreux corpuscules colorés sous l'influence du rouge neutre. Dans les Saprolégniacées, ces filaments finissent par se transformer en un unique canal vacuolaire occupant toute la longueur du filament.

Les vacuoles fixent toujours instantanément et d'une manière intense la majorité des colorants vitaux, tandis que les mitochondries ne se colorent que difficilement et par des colorants très spéciaux (vert Janus et violet de Dahlia), qui ne teintent que très difficilement le vacuome. Après fixation par le formol ou l'alcool et coloration par le bleu de Crésyl, le vacuome apparaît sous forme de vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques colorés en rouge, tandis que le chondriome n'est pas différencié ou est détruit. Au contraire, enfin, la métachromatine et le vacuome ne se colorent pas par les méthodes mitochondriales qui donnent de belles différenciations du chondriome. D'ailleurs, j'ai imaginé, comme on vient de le voir plus haut (p. 96), un procédé qui permet de colorer à la fois sur le vivant les mitochondries par le violet de Dahlia et les vacuoles par le rouge neutre. Dans mes recherches les plus récentes sur les Saprolégniacées, j'ai réussi enfin à obtenir de très belles colorations vitales doubles par l'emploi combiné du vert Janus et du rouge neutre. J'ai suivi, par ce procédé, le vacuome et le chondriome à tous les stades du développement et j'ai pu fournir la preuve indéniable que ces deux systèmes sont absolument indépendants l'un de l'autre.

Dans les Phanérogames, les colorations vitales des cellules des méristèmes font toujours apparaître des éléments morphologiques très semblables aux mitochondries [**135, 136, 146, 148, 150, 155, 157, 159, 165, 168, 169, 170, 173, 174, 175, 178, 179, 182, 183, 184, 196, 198, 202, 203**]. Ce sont de minuscules éléments se présentant sous forme de grains isolés ou assemblés en chaînettes et surtout des filaments onduleux et fréquemment anastomosés en réseau ; ces éléments se colorent toujours uniformément et d'une manière intense par les colorants vitaux ; ils ont une consistance semi-fluide et sont constitués par une substance en solution colloïdale très condensée.

Au cours de la différenciation cellulaire, ces éléments absorbent l'eau, se gonflent puis se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles très fluides, incolores ou faiblement colorées, renfermant toujours la substance douée d'un pouvoir électif dont elles dérivent, mais en solution très diluée. Celle-ci est susceptible de se précipiter par l'action

des colorants vitaux sous forme de corpuscules vivement colorés et animés de mouvements browniens. Ici encore, il est facile de démontrer que le vacuome est une formation tout à fait différente du chondriome que souvent on peut distinguer sur le vivant dans les préparations colorées vitalement par le rouge neutre sous forme d'éléments incolores. Les aspects mitochondriformes du vacuome ne sont d'ailleurs que très passagers et disparaissent dès le début de la différenciation des cellules, tandis que le chondriome persiste pendant tout le développement. Enfin mes recherches démontrent que les caractères histochimiques des vacuoles diffèrent essentiellement des mitochondries. Elles fixent la plupart des colorants vitaux qui ne colorent pas les mitochondries et ne se teignent pas électivement par les méthodes mitochondriales.

Sur une coupe traitée par les méthodes mitochondriales, les formes initiales mitochondriformes des vacuoles apparaissent un peu gonflées, sous l'action du fixateur et se présentent sous l'aspect de canalicules, le plus souvent incolores, tout à fait semblables aux formations énigmatiques décrites dans la cellule animale sous le nom de canalicules de Holmgren. Toutefois, dans certains cas, on constate, dans ces canalicules, des filaments ou des grains sidérophiles, qui résultent de la précipitation du contenu colloïdal des jeunes vacuoles sous l'influence du fixateur, mais ces éléments toujours intravacuolaires, ne peuvent, en aucun cas, être confondus avec les éléments du chondriome. Ils ne se rencontrent d'ailleurs que dans une phase très limitée du développement des cellules et leur coloration est très inconstante et nullement élective.

h) *Nature chimique des produits contenus dans les vacuoles* [**136, 148, 150, 155, 157, 159, 165, 168, 169, 170, 173, 174, 178, 183, 184, 191, 199**]. — Les colloïdes du vacuome donés du pouvoir de fixer les colorants vitaux correspondent, dans tous les Champignons, à la substance que j'ai caractérisée dans ces Végétaux sous le nom de métachromatine. Toutefois, dans les Saprolégniacées, à l'exception des *Leptomitus* [**192**], la substance contenue dans le vacuome ne présente pas les caractères de la métachromatine et il est impossible de la colorer après fixation. Dans les Phanérogames, la substance colloïdale du vacuole n'offre en aucun cas les caractères histochimiques bien définis de la métachromatine. Elle est détruite par l'alcool qui conserve la métachromatine et, une fois fixée par le formol, ne présente aucune coloration métachromatique par les teintures d'aniline. Cette substance se colore parfois par l'hématoxyline, comme on l'a vu après fixation par les méthodes mitochondriales. Elle n'offre, d'autre part, aucun des caractères des lipoïdes. Fréquemment elle prend une teinte rose très nette par le réactif de Millon et il semble qu'on puisse la considérer comme une protéine soluble dans l'alcool. Dans beaucoup de cas enfin la substance colloïdale des vacuoles montre, dès les premières phases de l'évolution du vacuome, les caractères microchimiques des composés phénoliques et peut alors être incolore ou à l'état de pigments anthocyaniques ; mais, en ce cas, elle paraît être toujours unie à une autre substance, probablement de nature protéique.

Mes recherches montrent donc que les substances colloïdales du vacuome sont

très diverses et peuvent être tantôt de la métachromatine, tantôt une substance probablement protéique parfois jointe à des composés phénoliques.

De toute cette série de faits apportés par mes recherches, vérifiés d'ailleurs par les travaux d'Alvaradó, de Mascré, d'Emberger, de Mangenot et de Pensa et d'un grand nombre d'autres auteurs, il ressort que les formes d'aspect mitochondrial du vacuome n'ont rien de commun avec le chondriome. Ces formes passagères semblent dues à des conditions physiques de la cellule qui influent en même temps sur la forme des mitochondries, lesquelles paraissent avoir une consistance semi-fluide semblable à celle des jeunes vacuoles.

c) *Origine et évolution des grains d'aleurone* [**183, 184, 199. 209, 216**]. — L'étude du vacuome m'a amené à reprendre, par des techniques nouvelles, mes anciennes observations sur les grains d'aleurone.

J'ai observé, à la fois sur le vivant et à l'aide des méthodes mitochondriales, la formation des grains d'aleurone dans l'albumen de la graine de Ricin. Dans les cellules de l'albumen d'une très jeune graine, on observe, sur le vivant, une ou un petit nombre de grosses vacuoles liquides dont le contenu prend, avec le rouge neutre, une teinte diffuse. Les méthodes mitochondriales mettent en évidence, dans les cellules, des mitochondries à l'état de courts bâtonnets et des plastes en forme de chondriocontes. Ces derniers élaborent de gros grains composés qui sont destinés à se résorber un peu avant la maturation de la graine : les vacuoles apparaissent comme des espaces vides de tout contenu. Dans la période qui précède la maturation de la graine, on constate que les grosses vacuoles se fragmentent en vacuoles plus petites ; celles-ci montrent, dans leur intérieur, un cristalloïde de protéine et un ou plusieurs globoïdes. Le rouge neutre ne se fixe ni sur les cristalloïdes protéiques, ni sur les globoïdes, mais donne au suc vacuolaire une teinte diffuse et y détermine la production de corpuscules vivement colorés et animés de mouvements browniens. Avec les méthodes mitochondriales, ces vacuoles apparaissent avec leur cristalloïde fortement coloré et de nombreux corpuscules sidérophiles semblables à ceux que l'on obtient par le rouge neutre. Dans la graine parvenue à maturité, les grains d'aleurone définitivement constitués cessent de se colorer vitalement, mais par contre apparaissent avec les méthodes mitochondriales sous forme de gros corpuscules arrondis uniformément teints en noir et dans lesquels on ne distingue plus le cristalloïde de la masse protéique amorphe.

Dès le début de la germination, les grains d'aleurone en s'hydratant reprennent l'aspect de vacuoles renfermant un cristalloïde de protéine et des globoïdes et dont le suc prend le rouge neutre qui détermine en outre la précipitation de corpuscules fortement colorés. Ces vacuoles, ensuite, augmentent de volume et se fusionnent les unes avec les autres pendant que les cristalloïdes se dissolvent lentement en donnant naissance à des figures d'aspect les plus variés. Les méthodes mitochondriales colorent, dans les vacuoles, les produits figurés provenant de la dissolution des cristalloïdes et y font apparaître des corpuscules sidérophiles. En même temps, elles différencient dans le cytoplasme, un chondriome constitué par un mélange de chondriocontes, de bâton-

nets et de grains qu'il était difficile de mettre en évidence dans la graine déshydratée. Plus tard, les vacuoles provenant de l'hydratation des grains d'aleurone confluent en une seule grosse vacuole dans laquelle le rouge neutre et les méthodes mitochondriales ne colorent plus que les précipités.

Ces recherches confirment donc mes anciennes observations sur la formation des grains d'aleurone des graines, et les recherches plus récentes de M. Pierre Dangeard sur les grains d'aleurone du Ricin. Elles démontrent que les grains d'aleurone résultent de la déshydratation de vacuoles riches en protéine : pendant la déshydratation consécutive à la maturation de la graine, la protéine se coagule et la vacuole se trouve remplacée par un corpuscule solide, qui est le grain d'aleurone, puis celui-ci, en s'hydratant au début de la germination, se transforme de nouveau en vacuoles. Mes recherches, par contre, n'ont pu vérifier les résultats obtenus dans l'albumen de Ricin par Mottier qui admet que la protéine résulte de l'émigration des mitochondries dans la vacuole.

L'étude que j'ai faite ensuite sur l'évolution des grains d'aleurone pendant la germination dans les cotylédons de Haricot et de Pois a fourni des données intéressantes qui ont confirmé les observations de Pierre Dangeard sur les grains d'aleurone du Pin. Elles ont montré que les grains d'aleurone qui, dans la graine à l'état de vie ralentie, se présentent dans les cellules cotylédonaires sous forme de petits corpuscules ronds, se colorant fortement par les méthodes mitochondriales, prennent en s'hydratant, au début de la germination, la forme de filaments qui peuvent s'anastomoser en réseau, puis, par une déshydratation plus accentuée, se transforment en grosses vacuoles remplies de corpuscules sidérophiles. Les colorations vitales au rouge neutre permettent de contrôler tous ces phénomènes.

d) *Origine des vacuoles* [**191**, **199**, **211**]. — Tous les faits relatifs au vacuome que je viens d'analyser ne nous renseignent pas sur l'origine des vacuoles. Ils permettent simplement d'affirmer que toute cellule renferme, à tous les stades de son développement, un vacuome. Cependant, à la suite de ses études sur la formation des grains d'aleurone, P. Dangeard a été amené à reprendre la théorie de De Vries et Went et à admettre que les vacuoles ne se forment jamais *de novo*, mais se transmettent toujours de cellule en cellule, soit sous forme de vacuoles liquides, soit sous forme de grains d'aleurone.

J'ai tenté, à mon tour, de résoudre cette intéressante question. L'étude très précise que j'ai faite du vacuome dans les Saprolégniacées [**192**] m'a permis de constater simplement que le vacuome se rencontre dans tous les filaments et même dans les zoospores où il est représenté par un très grand nombre de petits corpuscules ronds, de consistance semi-fluide, faciles à colorer par le rouge neutre. Ces petites vacuoles apparaissent dans les jeunes zoosporanges et paraissent résulter de la fragmentation des vacuoles réticulées, puis elles se répartissent entre les zoospores. A la germination des zoospores, les petites vacuoles rondes se gonflent et prennent l'aspect de grosses vacuoles. Dans le *Leptomitus*, où l'accroissement se fait aux dépens d'une

sorte de bourgeon formé à l'extrémité des filaments, qui ensuite s'allonge, on constate que le vacuome réticulé envoie, dans ce bourgeon, un rameau qui, en s'accroissant, finit par s'y ramifier et y prendre l'aspect d'un réseau. Les Saprolégniacées, où le vacuome apparaît à l'état de réseau, et les Phanérogames, où les vacuoles mitochondriformes sont très nombreuses dans les cellules embryonnaires, se prêtent mal à l'étude de l'origine des vacuoles.

Certains Champignons, tels que le *Penicillium glaucum*, l'*Oidium lactis* et les Levures permettent au contraire de suivre d'une manière beaucoup plus précise la naissance des vacuoles. Ce sont donc ces Champignons que j'ai choisis pour essayer de résoudre ce problème [**211**]. Dans le *P. glaucum* et l'*O. lactis*, en effet (fig. 51), les vacuoles apparaissent dans les extrémités des filaments sous forme d'un certain nombre de petits corpuscules de consistance semi-fluide que le rouge neutre colore d'une manière homogène et assez intense. Ces corps s'hydratent très rapidement et prennent l'aspect de petites vacuoles dans lesquelles le rouge neutre détermine la formation d'un corpuscule fortement coloré et animé de mouvements browniens. Ces vacuoles grossissent et se fusionnent entre elles pour constituer, dans les régions plus différenciées, de très grosses vacuoles qui montrent, avec le rouge neutre, un grand nombre de corpuscules fortement colorés. L'étude de la formation des rameaux permet de se faire une idée plus précise de l'origine des vacuoles. En effet on voit souvent un rameau se former aux dépens d'un article déjà pourvu de grosses vacuoles : ce rameau est d'abord dépourvu de vacuoles, mais, très vite, on voit apparaître, dans son cytoplasme, de petits corpuscules que le rouge neutre colore assez intensément. A mesure que le rameau s'allonge, ces petits corpuscules deviennent de plus en plus nombreux puis, vers la base du rameau, on les voit se transformer en vacuoles liquides plus grosses dans lesquelles le rouge neutre amène la production de corpuscules vivement colorés ; celles-ci ensuite so fusionnent en plus grosses vacuoles. Or, il est difficile d'expliquer l'origine dés petites vacuoles qui apparaissent dans le jeune rameau et qui n'ont aucune relation avec les grosses vacuoles du filament dont il dérive, autrement que par une néoforma-

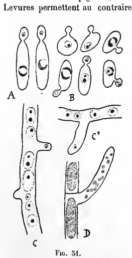


Fig. 51.

Formation des vacuoles dans les champignons. A, cellules de *Mycoderma cerevisiæ* et B, cellules de *S. Pastorianus*, colorées vitalement par le rouge neutre, pendant le bourgeonnement. Le bourgeon d'abord dépourvu de vacuoles montre bientôt une petite vacuole qui ne paraît avoir aucune relation avec la grosse vacuole de la cellule mère. — C et C', Filaments de *Penicillium glaucum* colorés vitalement par le rouge neutre : on voit apparaître, dans les rameaux, une petite vacuole qui ne paraît pas dériver des grosses vacuoles du filament qui leur donne naissance. — D, Filament d'*Oidium lactis* coloré vitalement par le rouge neutre : ici les vacuoles sont uniformément colorées : on peut voir que le rameau renferme de nombreuses et minuscules vacuoles qui ne paraissent pas avoir de rapport avec les grosses vacuoles du filament dont il dérive.

tion. L'étude des Levures, et entre autres du *Saccharomycodes Ludwigii*, m'a donné des résultats semblables. Les cellules de cette Levure ne renferment souvent qu'une seule grosse vacuole dans laquelle le rouge neutre fait apparaître de nombreux corpuscules fortement colorés et animés de mouvements browniens. Or, pendant le bourgeonnement, on voit se former, à l'un des pôles de la cellule, un petit bourgeon d'abord dépourvu de vacuole dans lequel apparaissent bientôt de petites vacuoles dans lesquelles le rouge neutre provoque la formation d'un corpuscule fortement coloré. Comme le bourgeon prend parfois naissance au pôle opposé à celui où se trouve la vacuole de la cellule-mère, on se trouve obligé d'admettre que les petites vacuoles qui apparaissent dans le bourgeon sont des néoformations.

Il y a toutefois des cas où les vacuoles peuvent être entraînées mécaniquement avec le cytoplasme dans les rameaux des moisissures et dans les bourgeons des Levures ; de même, pendant le partage des cellules embryonnaires des Phanérogames, on constate souvent que les vacuoles de la cellule-mère se distribuent entre les deux cellules-filles, mais cela n'implique nullement que les vacuoles ne se forment pas *de novo* et mes recherches semblent apporter la preuve de leur néoformation.

e) *Réversibilité de forme du vacuome* [**146, 191, 197, 198, 202, 203, 211, 216**]. — L'ensemble de mes observations m'a amené à me représenter de la manière suivante le mode de formation et l'évolution du vacuome. Il semble que l'on doive considérer les vacuoles comme dérivées de la production, dans le cytoplasme, de colloïdes, de nature chimique très diverse, produits de réserve ou de déchets du métabolisme cellulaire. Ces produits se sépareraient du cytoplasme sous forme de colloïdes non miscibles avec les colloïdes cytoplasmiques et qui, par suite d'un fort pouvoir d'absorption de l'eau, se transformeraient, par hydratation, en vacuoles renfermant le colloïde dont elles dérivent à l'état de solution très diluée et pouvant être précipité sous forme de corpuscules sous l'influence des colorants vitaux et des fixateurs. A son origine, la vacuole offre une consistance semi-fluide; elle est formée par une solution très condensée de colloïdes et, grâce à cette consistance, elle est soumise aux actions exercées par les courants cytoplasmiques qui peuvent déterminer son étirement et sa transformation en filaments. La consistance des vacuoles à cet état étant voisine de celle des mitochondries, on s'explique ainsi la convergence de forme de ces deux catégories d'éléments de constitution chimique cependant très différente. En continuant à s'hydrater, les vacuoles filamenteuses se transforment en réseau, puis le réseau se gonfle et ses filaments se fusionnent pour constituer les grosses vacuoles liquides des cellules adultes. Le vacuome apparaît comme un système permanent de la cellule qui se forme *de novo* dans les cellules les plus jeunes, mais revêt, au cours du développement, les deux aspects suivants bien différents :

1° Minuscules et très nombreux éléments de consistance semi-fluide, uniformément colorables par le rouge neutre et présentant des formes sphérulaires, filamenteuses ou réticulaires ;

2° Un petit nombre de grosses vacuoles liquides résultant de l'hydratation et du fusionnement des éléments précédents, des colloïdes en solution très diluée dont le rouge neutre détermine la précipitation sous forme de corpuscules animés de mouvements browniens.

Il semble qu'il peut y avoir une certaine réversibilité entre ces deux formes du vacuome, suivant le degré d'hydratation de la cellule. C'est ainsi que, pendant la formation des grains d'aleurone du Ricin, Pierre Dangeard a montré que les vacuoles, avant de se transformer en grains d'aleurone, peuvent offrir des aspects filamenteux et réticulaires. Par une déshydratation plus complète elles sont transformées en corpuscules solides, de formes arrondies correspondant aux grains d'aleurone; puis, à la germination ces grains d'aleurone sont susceptibles, en s'hydratant, de reprendre, comme je l'ai montré dans les cotylédons du Pois et du Haricot, la forme filamenteuse et réticulaire, et enfin, par une hydratation plus accusée, de se transformer en vacuoles liquides rondes.

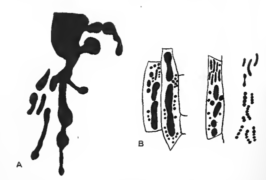


Fig. 52.

A, Formation de petites vacuoles filamenteuses par bourgeonnement d'une grosse vacuole remplie d'anthocyane observée pendant la plasmolyse dans une cellule de pétale de Tulipe. — B, Je reproduis ici la figure des cellules des poils sécréteurs de *Drosera rotundifolia* : le vacuole de ces poils remplie d'anthocyane se décompose, pendant la sécrétion, en petites vacuoles filamenteuses ou en forme de grains assemblés en chaînettes, phénomène analogue à celui que j'ai observé dans les cellules de Tulipe.

J'ai pu provoquer expérimentalement la réversibilité du vacuome dans les Saprolégniacées [**191**] et surtout dans les cellules épidermiques de Tulipe, par plasmolyse [**146**, **198**, **213**]. Les cellules épidermiques des pétales des variétés de Tulipe

à fleurs rouges renferment une énorme vacuole remplie de pigment anthocyanique. (fig. 52). Par une forte plasmolyse de ces cellules, j'ai pu obtenir souvent la fragmentation de cette vacuole en nombreuses et minuscules vacuoles de consistance semi-fluide qui prenaient les formes les plus variées : grains isolés ou réunis en chaînettes, figures en haltères ou en massues, filaments onduleux séparés ou réunis en fins réseaux. Ces phénomènes sont à rapprocher d'observations anciennes de Darwin et de De Vries sur les cellules épidermiques des tentacules de *Drosera rotundifolia*. Ces savants [1] avaient remarqué que la grosse vacuole remplie de pigment rouge que l'on trouve normalement dans des cellules peut, sous l'influence d'un attouchement, se fragmenter brusquement en un grand nombre de petites vacuoles présentant les formes les plus diverses et souvent filamenteuses. Dès que l'excitation cesse, ces vacuoles se fusionnent pour reconstituer une seule grosse vacuole.

Il apparaît donc, d'après mes recherches, que les vacuoles peuvent présenter, selon le degré d'hydratation de la cellule trois états différents et réversibles : 1° l'état semi-fluide, caractérisé par de minuscules éléments filamenteux ou réticulaires, 2° l'état solide, caractérisé par des corpuscules ronds, 3° l'état liquide, se traduisant par de grosses inclusions aqueuses, c'est-à-dire par des vacuoles classiques telles qu'on les définit ordinairement.

f. *Relations entre le vacuome des cellules végétales et les canalicules de Holmgren et l'appareil de Golgi des cellules animales* [**150, 174, 175, 184, 185, 186, 190, 196, 198, 202, 203, 208, 209, 210, 211, 215, 217, 224, 226**]. — Le point le plus important de mes recherches sur le vacuome est l'assimilation que j'ai faite de ce système aux formations, jusque-là énigmatiques, décrites dans les cellules animales sous le nom de canalicules de Holmgren et d'appareil de Golgi qui ont ouvert des horizons tout nouveaux pour l'étude de la cellule animale et ont permis de résoudre une question importante et très obscure de cytologie générale.

Dès mes premières recherches sur le vacuome, à la suite des travaux de Dangeard (1920), j'ai pu fournir la preuve que, contrairement à l'opinion de ce savant, le vacuome ne correspond pas au chondriome mais constitue un système indépendant du chondriome qui se superpose à lui. Par contre, j'avais été frappé par la ressemblance que présentent les formes initiales du vacuome obtenues par coloration vitale au rouge neutre avec l'appareil réticulaire de Golgi, décrit dans les cellules animales [**150, 174, 175, 184**]. D'autre part, en étudiant le vacuome dans les préparations traitées par la méthode de Regaud, j'avais constaté que ce système apparaît, dans les cellules du méristème, sous forme de canalicules incolores rappelant beaucoup les canalicules de

[1] Les intéressantes et toutes récentes recherches de M. Quinthanilha sur la cytologie des plantes carnivores, commencées dans mon laboratoire, et celles de M. Dufrénoy sur la même question, de même que celles de M. Mangenot sur les renflements moteurs de la Sensitive semblent indiquer que les mouvements des plantes et les phénomènes de digestion se traduisent par des modifications profondes du vacuome qui peut passer de l'aspect de vacuoles liquides à la forme semi-fluide et mitochondriforme.

Holmgren. Aussi, avais-je émis l'hypothèse que les formations décrites dans les cellules animales sous le nom de canalicules de Holmgren et de réseau de Golgi pourraient bien représenter les mêmes formations obtenues par des méthodes différentes l'une en négatif, l'autre en positif et correspondre à certaines phases d'un vacuome

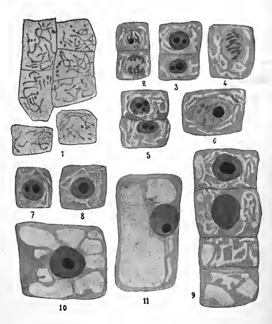


Fig. 53.
Système vacuolaire dans la racine d'orge.

analogue à celui de la cellule végétale. Déjà Bensley avait observé dans les cellules du méristème de la racine d'*Allium cepa* des canalicules de Holmgren qui se transformeraient peu à peu en vacuoles et avait formulé l'idée que les formations décrites sous ce nom correspondraient, peut-être, dans les cellules animales, à des figures de formation des vacuoles.

Dans des recherches faites avec M. Mangenot [**185, 186**], nous avons obtenu ensuite la vérification de cette hypothèse (1922) par l'étude de la racine d'Orge (fig. 53). Les cellules du méristème de cette racine montrent, à l'aide de colorations vitales au rouge neutre, un vacuome constitué par de minuscules éléments de forme filamenteuse et réticulaire tout à fait caractéristiques, qui, dans les régions les plus différenciées, se gonflent et se transforment en vacuoles liquides remplies de corpuscules fortement colorés par le rouge neutre. En traitant cette racine par la méthode préconisée par Bensley pour la différenciation des canalicules de Holmgren, nous avons réussi à obtenir des canalicules de Holmgren se présentant sous forme de filaments incolores, onduleux et souvent anastomosés en réseaux, se détachant à l'emporte-pièce sur le fond gris du cytoplasme et qui correspondraient exactement aux formes initiales du vacuome; on pouvait assister, dans les régions plus différenciées, au gonflement de ces canalicules et à leur transformation en grosses vacuoles. D'autre part en traitant cette même racine par la méthode argentique de Da Fano qui sert à la mise en évidence de l'appareil de Golgi, nous avons obtenu l'imprégnation du vacuome dans les cellules du méristème sous forme d'un appareil de Golgi qui, peu à peu, disparaissait dans les cellules plus différenciées pour faire place à de grosses vacuoles.

Ces résultats qui éclaircissaient le problème si discuté et si obscur de la signification de l'appareil de Golgi ont eu une grande répercusion et furent presque immédiatement le point de départ des travaux de Cytologie animale de Corti et surtout de Parat et Painlevé qui ont entièrement vérifié nos conclusions. Corti (1924) a montré que les cellules épithéliales de l'intestin des Mammifères offrent un appareil de Golgi très caractérisé qui, dans les préparations traitées par la méthode de Regaud, se traduit par un espace vacuolaire correspondant à l'appareil de Holmgren et que l'auteur désigne sous le nom de lacunome. Il assimile donc l'appareil de Golgi et l'appareil de Holmgren à une même formation correspondant aux vacuoles. Les belles recherches de Parat et de Painlevé (1925) qui ont porté sur les cellules animales les plus variées ont démontré que l'appareil de Golgi correspond toujours à un vacuome que l'on peut mettre en évidence au moyen des colorations vitales au rouge neutre et qui se traduit, dans les préparations traitées par la méthode de Bensley, par des canalicules de Holmgren. Ces auteurs ont réussi, en outre, en utilisant le mélange de rouge neutre et de vert Janus que nous avions préconisé, à obtenir la double coloration vitale du vacuome et du chondriome et à établir l'indépendance des deux systèmes et leur présence constante dans toutes les cellules à toutes les phases de leur développement. Ces résultats furent confirmés ensuite par les travaux de Zwarzin, Chloquin, Battacharya, Benoit, Joyet-Lavergne, etc.

Malgré leur précision, ces résultats ont été l'objet, pour ce qui concerne la cellule animale, des plus vives controverses de la part d'un certain nombre d'auteurs. C'est pourquoi, j'ai cru utile de reprendre cette question par des recherches d'ensemble sur les cellules végétales, plus favorables aux observations vitales que les cellules animales [**207, 208, 209, 210, 217, 219**]. Pour cela, j'ai choisi des cellules appartenant aux groupes les plus variés de la série végétale, mais qui se prêtaient particulièrement à

l'observation vitale et dont je connaissais bien la structure pour l'avoir étudiée antérieurement. Les Saprolégniacées étaient tout à fait indiquées pour ce genre d'études et c'est par les Champignons que j'ai commencé mes recherches. Un *Saprolegnia*, traité par la méthode de Bensley, m'a donné, dans les extrémités des filaments en voie de croissance, des canalicules de Holmgren correspondant aux phases réticulaires du vacuome que l'on obtient par coloration vitale au rouge neutre et que l'on voyait se

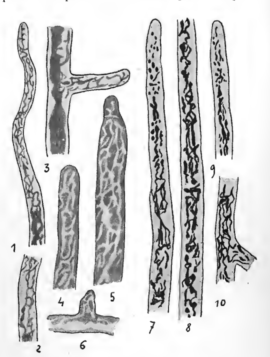


Fig. 54.

Vacuome, canalicules de Holmgren et appareil de Golgi dans un *Saprolegnia*. 1, 2 et 3, Filaments colorés vitalement par le rouge neutre : dans les extrémités des filaments le vacuome apparaît sous forme d'un même réseau qui se gonfle à la base pour se transformer en un unique canal vacuolaire. — 4 à 6, Filaments traités par la méthode de Bensley et dans lesquels le vacuome apparaît sous forme de canalicules de Holmgren. — 7 à 10, Filaments traités par la méthode de De Fano et montrant un appareil réticulaire de Golgi correspondant au vacuome.

transformer peu à peu en un canal vacuolaire unique (fig. 54). Le même *Saprolegnia*, traité par les méthodes argentiques de Da Fano et de Cajal et par la méthode osmique de Kolatchev, a fourni un appareil de Golgi tout à fait caractéristique, uniquement localisé dans les extrémités des filaments et absolument superposable à l'appareil de Holmgren et au vacuome ; dans les régions plus différenciées, le réseau se gonflait et faisait place à un canal vacuolaire dans lequel l'argent et l'osmium n'imprégnaient plus que des corpuscules correspondant à ceux que colore le rouge neutre.

J'ai trouvé également un matériel de choix dans la racine de Pois (fig. 55). Les cellules du méristème de cette racine offrent un vacuome filamenteux et réticulaire facile à mettre en évidence au moyen de colorations vitales au rouge neutre. Dans les préparations traitées par la méthode de Bensley, ce vacuome se traduit par des canalicules de Holmgren et les méthodes de Da Fano et de Kolatchev permettent de mettre en évidence, dans toutes les cellules du méristème, un superbe réseau de Golgi qui se superpose exactement au vacuome obtenu par le rouge neutre. On peut assister, en outre, à la transformation progressive de ce réseau en vacuoles. On constate que ce réseau se gonfle, puis donne naissance à de petites vacuoles renfermant de nombreux précipités argentophiles et osmiophiles, surtout localisés à la périphérie ou agglomérés en forme de croissant sur l'un des côtés de la vacuole ; ces petites vacuoles se fusionnent ensuite en grosses vacuoles renfermant toujours des corpuscules argentophiles et osmiophiles affectant des dispositions très variées.

L'étude des grains d'aleurone des cotylédons de Pois, au début de la germination, m'a fourni des résultats également très suggestifs. Les grains d'aleurone sont admirablement imprégnés par l'argent et l'osmium. Dès le début, ils offrent l'aspect de petits corpuscules ronds, uniformément colorés par l'argent ou l'osmium, mais ceux-ci, en s'hydratant, s'allongent en filaments, qui s'anastomosent en un réseau de Golgi. Celui-ci ensuite se transforme par une hydratation plus complète en grosses vacuoles renfermant de nombreux précipités imprégnés par l'argent ou par l'osmium. Les figures obtenues par les méthodes argentiques ou osmiques se superposent ici encore exactement à celles données par le rouge neutre.

J'ai obtenu également l'imprégnation, par la méthode de Da Fano, des grains de la couche à aleurone des grains d'Orge. Dès le début de la germination, ces grains s'hydratent et apparaissent dans les colorations vitales au rouge neutre sous forme de petites vacuoles renfermant des corpuscules fortement colorés et animés de mouvements browniens ; ces corpuscules ont une tendance à se fusionner en une seule masse qui vient s'accoler sur le bord de la vacuole. La méthode de Da Fano colore les mêmes corpuscules et très souvent ceux-ci apparaissent, comme dans les colorations au rouge neutre, fusionnés sous forme d'une sorte de croissant sur les bords de la vacuole, donnant des figures tout à fait semblables aux éléments ou corps de Golgi ou dictyosomes décrits dans beaucoup de cellules animales.

L'étude des jeunes feuilles d'*Iris germanica*, des dents des folioles de Rosiers et du bourgeon d'*Elodea canadensis* dont j'ai déjà étudié le vacuome dans des recherches antérieures, m'a donné également, par les méthodes argentiques et osmiques,


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28

l'imprégnation d'un vacuome analogue à celui que l'on obtient par le rouge neutre.

Des faits très instructifs m'ont été fourni par l'observation de divers Champignons (*Oidium lactis*, *Endomyces Magnusii*, *Penicillium glaucum*, *Saccharomycodes Ludwigii*) dont les vacuoles, qui n'offrent pas de formes filamenteuses et réticulaires, renferment de la *métachromatine* et qui, sous l'influence des colorants vitaux et des fixateurs, précipite sous forme de corps connus sous le nom de corpuscules métachromatiques. En traitant ces Champignons par la méthode de Da Fano, j'ai obtenu une imprégnation des corpuscules métachromatiques correspondant exactement aux figures que donnent, sur ces Champignons, les colorations vitales par le rouge neutre Après fixation au formol ou à l'alcool, ces corpuscules sont, comme on le sait, colorables métachromatiquement en rouge par les colorants basiques (bleu ou violet d'aniline) et les préparations obtenues par ces méthodes sont absolument superposables à celles que donnent la méthode de Da Fano. La méthode de Kolatchev enfin m'a donné des aspects un peu différents des jeunes vacuoles qu'elle fait apparaître sous forme de petites plages grises remplies de petits précipités argentophiles qui rappellent beaucoup les éléments de Golgi obtenus par cette méthode dans certaines cellules animales, notamment par Joyet-Lavergne dans les Sporozoaires. Des résultats semblables ont été obtenus dans certaines Chlorophycées (Conferves, *Microspora*), dans les Diatomées, dans les Cyanophycées et même dans les Bactéries où la méthode argentique a constamment donné l'imprégnation des corpuscules métachromatiques.

Mes recherches m'ont permis, en même temps, de préciser l'action, sur les cellules végétales, des méthodes argentiques et osmiques utilisées pour la différenciation de l'appareil de Golgi. Elles m'ont montré que les méthodes à imprégnations argentiques fournissent des résultats très inconstants et imprègnent tantôt le chondriome, tantôt le vacuome. Le chondriome, quand il est imprégné, ne montre généralement aucune altération et ne peut être confondu avec le vacuome. Mais dans la grande majorité des cas, l'imprégnation porte exclusivement sur le vacuome et on peut affirmer que les méthodes ont une élection toute spéciale pour les substances contenues dans les vacuoles.

Les méthodes osmiques donnent des résultats plus inconstants encore : tantôt elles noircissent fortement le chondriome, en gonflant et en altérant plus ou moins ses éléments ; tantôt elles imprègnent exclusivement le vacuome ; tantôt elles noircissent

Fig. 55. — Evolution du vacuome dans la plantule de Pois.

1 à 4, Stade filamenteux et réticulaire du vacuome des cellules du méristème de la racine obtenu par une coloration vitale au rouge neutre. — 5 à 8, Vacuome de cellules plus différenciées de la racine : les vacuoles filamenteuses et réticulaires semi-fluides uniformément colorées par le rouge neutre se transforment par gonflement en vacuoles liquides qui se fusionnent pour constituer de grosses vacuoles. Ces vacuoles sont incolores, mais renferment des corpuscules fortement colorés qui résultent de la précipitation de leur contenu colloïdal. — 9 à 14, Cellules du méristème de la racine traitée par la méthode de Da Fano : le vacuome apparaît avec l'aspect caractéristique du réseau de Golgi. — 15 et 16, Cellules du même méristème traitées par la même méthode et dans lesquelles, par suite d'une imprégnation moins bonne, le vacuome apparaît sous forme de canalicules de Holmgren renfermant à leur intérieur des précipités argentophiles. — 17 à 26, Cellules plus différenciées traitées par la même méthode ; les vacuoles filamenteuses et réticulaires se sont transformées en vacuoles liquides dans lesquelles l'argent se dépose sur les précipités formés sous l'action du fixateur. Dans quelques-unes de ces vacuoles, ces précipités sont accolés en forme de croissant sur le bord des vacuoles qui apparaissent sous forme de dichtyosomes — 27 et 28, Cellules périphériques des cotylédons au début de la germination traitées par la méthode de Da Fano. Les grains d'aleurone deviennent semi-fluides et ont une tendance à prendre une forme filamenteuse.

en même temps les deux systèmes. Enfin, dans les cellules en voie de mitose, elles mettent en évidence un système de fibrilles paraissant de nature kinoplasmique qui a déjà été signalé à l'aide de ces mêmes méthodes, dans diverses cellules végétales, par Nassonov. En général, pour obtenir le vacuome, il est nécessaire de prolonger le traitement par l'acide osmique pendant au moins quinze jours. Les méthodes osmiques se sont donc montrées beaucoup moins électives que les méthodes argentiques, pour le vacuome, dans les cellules végétales et leur emploi expose à des erreurs : car souvent l'imprégnation porte à la fois sur le vacuome et le chondriome et il est difficile de faire la part de ce qui revient à l'un et à l'autre.

On voit donc que mes recherches ont fourni la preuve que l'appareil de Golgi et les canalicules de Holmgren sont les mêmes formations obtenues par des méthodes différentes, l'une en positif, l'autre en négatif et correspondant à un vacuome semblable à celui que l'on obtient par coloration vitale au rouge neutre. Elles ont ainsi donné une solution définitive à cette question si importante, et restée jusqu'ici si obscure, de la signification des canalicules de Holmgren et de l'appareil de Golgi. Par là même, elles ont apporté des documents importants sur les questions discutées de l'origine, de la nature chimique et du rôle de l'appareil de Golgi. Le vacuome est constitué, en effet, par des colloïdes de nature chimique très variée et ne paraît que rarement renfermer de lipoïdes : ce qui semble indiquer que la nature lipoïde attribuée à l'appareil de Golgi n'est pas exacte, comme l'ont d'ailleurs soutenu récemment Corti et Parat. D'autre part, le vacuome étant le centre de l'accumulation de nombreux produits de réserve ou de déchets très importants de la cellule végétale, on peut déduire qu'il en est de même pour l'appareil de Golgi des cellules animales.

B. — Action des colorants vitaux sur le vacuome.

[**216**, **217**].

A la suite des controverses soulevées en cytologie animale par la question de l'appareil de Golgi, de son assimilation au vacuome et de sa coloration vitale par le rouge neutre, quelques auteurs ont été amenés à mettre en doute la valeur de la coloration vitale. On a soutenu que le rouge neutre n'a pas la spécificité pour le vacuome que lui attribuent certains auteurs, qu'il colore aussi des corpuscules solides et peut provoquer la production artificielle dans le cytoplasme de vacuoles colorables. On a même prétendu que la coloration vitale ne portait que sur les parties mortes provenant de l'altération des colloïdes cytoplasmiques sous l'influence du colorant. Enfin on a parlé de la possibilité de coloration globale du cytoplasme. J'ai eu l'occasion de préciser l'action des colorants vitaux par l'étude des cellules végétales beaucoup plus favorables aux observations vitales que les cellules animales, ce qui m'a permis de prendre position dans cette controverse (fig. 56).

Mes recherches ont montré qu'évidemment le rouge neutre ne peut être considéré comme un réactif absolument spécifique du vacuome, car il colore aussi certaines graisses contenant de la cholestérine (huile de Ricin), mais à part cette exception, on peut affirmer qu'il ne colore presque exclusivement que le vacuome. La coloration du vacuome diffère selon l'état physique de ce système. Lorsque le vacuome est dans sa phase semi-fluide, filamenteuse et réticulaire, le rouge neutre colore d'une manière homogène et assez intense ses éléments. Il est facile de s'assurer que les figures qu'il donne correspondent bien au vacuome tel qu'il se présente sur le vivant sans coloration, car il y a des cellules où les formes filamenteuses et réticulaires du vacuome, grâce à la réfringence de leur contenu, se distinguent très bien sur le vivant (racines d'Orge, jeunes feuilles d'*Iris germanica*). Il y a aussi des cas où le vacuome renferme, dès le début, des pigments anthocyaniques qui lui donnent une coloration naturelle (dents des jeunes folioles de Rosier). Ces formes filamenteuses et réticulaires sont cependant délicates et, à la suite d'une observation prolongée, on les voit se gonfler. Dans le cas où le vacuome est composé de grosses vacuoles liquides, le rouge neutre détermine la précipitation des colloïdes contenus dans celles-ci sous forme de corpuscules qu'il colore fortement. Or ces vacuoles se distinguent presque toujours avant la coloration et l'on peut suivre, sous le microscope, toute leur évolution. On voit apparaître, dans la vacuole, de petits corpuscules fortement colorés et animés de mouvements browniens, puis ceux-ci se gonflent et se fusionnent en une masse qui vient s'accoler sur l'un des bords de la vacuole. Il arrive fréquemment aussi que les corpuscules soient entraînés dans le cytoplasme hors de la vacuole, pouvant faire penser, à tort, à leur origine cytoplasmique. Enfin au cours de l'observation, le colorant s'accumule peu à peu dans la vacuole qu'il teinte d'une manière diffuse et parfois même peut cristalliser dans celle-ci. Il semble donc que le colorant ne se fixe pas seulement sur les colloïdes qui se trouvent dans la vacuole, mais que les vacuoles aient en outre le pouvoir d'accumuler le colorant, comme l'admettait J. Renaut par sa sécrétion rhagiocrine. Mais, en aucun cas, je n'ai pu constater que le rouge neutre puisse provoquer la formation, dans le cytoplasme, de vacuoles ou de granulations artificielles. Enfin, dès que la cellule meurt, le vacuome se décolore et le colorant se fixe

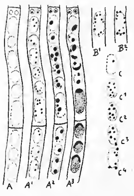


Fig. 56.

Coloration vitale du vacuome — A, Filament de *Penicillium glaucum* n'étant pas encore coloré et montrant des vacuoles dépourvues de corpuscules métachromatiques — A^1, A^2, A^3, le même filament aux différentes phases de la coloration : A^1, apparition des corpuscules métachromatiques ; A^2 et A^3, gonflement et fusionnement des corpuscules qui finissent par se déposer en une seule masse sur le bord de la vacuole et y former une sorte de croissant ; en même temps le contenu de la vacuole se colore d'une manière diffuse — B^1 et B^2, Filament du même Champignon à deux phases de la coloration : les corpuscules métachromatiques émigrent dans le cytoplasme. — C, C^1, C^2, C^3, C^4, Diverses phases de la coloration d'une même vacuole : formation de corpuscules métachromatiques et leur émigration dans le cytoplasme.

alors sur le noyau et le cytoplasme ; il ne peut donc être question de coloration globale du cytoplasme. D'autre part, s'il est bien vrai que la coloration ne porte que sur les colloïdes vacuolaires qui sont des parties mortes de la cellule, il n'est pas exact de soutenir que lo colorant ne se fixe que sur les colloïdes cytoplasmiques altérés par son action. La coloration du vacuome est une coloration essentiellement vitale et disparaît à la mort des cellules. C'est en quoi elle diffère de la coloration vitale du chondriome par le vert Janus et le violet de Dahlia qui ne se produit que dans les phases précédant la mort des cellules et qui est immédiatement suivie de l'altération des mitochondries.

Les autres colorants vitaux du vacuome (bleu de Crésyl, de méthylène, de Nil, etc.) paraissent agir comme le rouge neutre.

C. — Signification des formations ergastoplasmiques.

[**198**, **199**]

On a désigné sous le nom d'ergastoplasme, dans les cellules animales, des formations chromophiles assez mal connues que l'on regarde aujourd'hui comme des artifices de préparation et, en particulier, comme le résultat de l'altération du chondriome sous l'influence des fixateurs. Des formations ergastoplasmiques ont été observées par les frères Bouin dans le sac embryonnaire des Liliacées ; elles se traduisent par un système de filaments chromatiques s'irradiant à partir du noyau dans tout le cytoplasme ; ces filaments semblent se transformer ensuite en corpuscules de structures concentriques désignés, par les auteurs, sous le nom de boules deutoplasmiques.

Mes recherches [**199**] ont apporté quelques renseignements sur la signification de ces formations ergastoplasmiques. Elles ont montré, en effet, que les formations filamenteuses et les boules deutoplasmiques observées dans les sacs embryonnaires des Liliacées (Bouin) correspondraient à des figures d'altération des plastes en voie d'élaborer de la protéine que j'ai décrites dans le Lis et aux phases de digestion de ces éléments.

Par contre, j'ai retrouvé [**198**], dans les cellules épidermiques de l'axe hypocotylé du Ricin, des formations assez semblables aux boules deutoplasmiques des Liliacées et aux corps connus, dans les cellules animales, sous le nom de parasomes ; ces corps étaient constitués par un corpuscule chromatique entouré de zones concentriques également chromatiques qui paraissaient se dérouler pour donner naissance à des formations spiraloïdes. Celles-ci à leur tour, en se déchirant, prenaient l'aspect de feuilles parallèles. Mais ici, ces formations, très comparables à l'ergastoplasme, coexistaient dans mes préparations avec le chondriomo et résultaient manifestement de l'altération produite par le fixateur sur des corpuscules intramoléculaires. Mes recherches m'amènent donc à penser que les formations ergastoplasmiques sont très hétérogènes et correspondent, selon les cas, à l'altération des éléments très divers (chondriome, vacuome, etc.).

D. — Origine des pigments anthocyaniques.

[**94, 101, 103, 105, 108, 115, 116, 136, 150, 175, 178**]

La question de l'origine de l'anthocyane a été longtemps très discutée. La majorité des auteurs ont admis que les pigments anthocyaniques dérivent de la transformation par oxydation de chromogènes préformés dans les vacuoles. Graffe, au contraire, pense que l'anthocyane apparaît directement sous forme de pigments. Pour R. Combes, enfin, les pigments anthocyaniques peuvent se former directement ou indirectement, selon les circonstances : dans ce dernier cas, ils résultent de la transformation de composés phénoliques incolores dont la présence est extrêmement fréquente dans les cellules végétales, mais, par réduction et non par oxydation. Combes a pu extraire le composé phénolique incolore et a obtenu *in vitro* sa transformation par réduction en pigment anthocyanique. Inversement, il a réussi à transformer l'anthocyane en composés incolores par oxydation. Les travaux de Wilstätter ont ensuite vérifié ces faits. Toutefois, la question de la transformation des composés phénoliques incolores par réduction est contestée et il semble qu'on admette plutôt maintenant qu'il s'agit d'une oxydation.

Mes recherches cytologiques sur la formation de l'anthocyane dans un grand nombre de feuilles et de fleurs m'ont amené au même résultat que R. Combes, relativement à l'origine de l'anthocyane [**94, 104, 108, 115, 116, 175**]. Elles ont établi que l'anthocyane peut apparaître directement au sein des éléments initiaux filamenteux ou réticulaires du vacuome ou bien résulter de la transformation, à un stade quelconque du développement du vacuome, de composés phénoliques incolores, présentant des réactions très voisines de celles des tanins et élaborés dans les formes initiales du vacuome. Enfin elles démontrent l'extrême fréquence des composés phénoliques incolores dans les cellules végétales, surtout dans les épidermes.

E. — Action des milieux hypotoniques et hypertoniques sur les cellules. Plasmolyse.

[**122, 126, 131, 133, 146**]

Les cellules épidermiques des fleurs de Tulipe et d'Iris, si favorables aux observations vitales, m'ont fourni l'occasion d'étudier l'action des milieux hypertoniques et hypotoniques sur les éléments constitutifs de la cellule, en particulier sur les vacuoles.

L'action des solutions hypertoniques présente surtout un intérêt spécial, car, depuis les belles recherches de De Vries, la plasmolyse n'a guère été étudiée et le savant botaniste s'est borné à l'observation de la vacuole, négligeant les détails de cytologie fine.

La plasmolyse, provoquée par des solutions, à divers degrés de concentration, de saccharose ou de sel marin, est facile à observer dans les cellules épidermiques des pétales des variétés jaune et rouge de Tulipe, parce que la vacuole est très distincte, grâce au pigment anthocyanique rouge qu'elle renferme, et parce que les chondriocontes se détachent nettement du cytoplasme par leur teinte jaune.

Une première phase consiste en une rétraction partielle de la masse cytoplasmique, ou protoplaste, qui se détache de place en place de la membrane cellulosique. Celle-ci s'achève et la deuxième phase correspond à la contraction complète du protoplaste au milieu de la cavité cellulaire, sous forme d'une masse arrondie. Le protoplaste offre toujours un contour parfaitement régulier, comme s'il était limité par une paroi périplasmique. Il reste cependant rattaché à la membrane cellulosique par de nombreux filaments, minces et dichotomisés, décrits par quelques auteurs comme des communications protoplasmiques et que je considère, avec Chodat, comme de simples adhérences avec la membrane cellulosique, dues à la viscosité du cytoplasme. Cependant, un certain nombre de ces filaments plus gros sont nettement en relation avec les ponctuations de la membrane et paraissent représenter des communications protoplasmiques (fig. 57).

Parfois la vacuole, en se contractant, se fragmente en petites vacuoles qui prennent des formes filamenteuses semblables à celles des primordia des vacuoles.

Le cytoplasme est le siège d'une série de phénomènes qui se traduisent d'abord par une augmentation de vitesse des courants, puis par l'apparition de nombreuses figures myéliniques, phénomènes que l'on observe aussi en milieu hypotonique ; puis il prend un aspect alvéolaire très caractéris-

Cv
V
C
m
n
Fm

FIG. 57.

Cellule épidermique d'une feuille d'*Iris germanica* plasmolysée par une solution de NaCl à 5 0/0 additionnée de rouge neutre : le contenu de la cellule s'est détachée de la membrane sous forme d'une grosse sphère qui se prolonge en haut et en bas par un mince filet pourvu de renflements : celui-ci offre, de place en place, de minces diverticules latéraux qui adhèrent à la membrane — *n*, Noyau. — *Fm*, Production, aux dépens du cytoplasme, de figures ressemblant à des formes myéliniques. — *m*, Mitochondries. — V, Vacuole colorée par le rouge neutre. — *Cv*, Corpuscules résultant de la précipitation du contenu colloïdal de la vacuole sous l'action du rouge neutre.

tique déjà décrit par Matruchot et Molliard. Dans cette phase, la cellule est encore vivante : elle est imperméable à l'éosine et reprend son aspect normal quand on la place dans un liquide isotonique.

Au bout d'un certain temps, la mort survient par suite d'une déshydratation plus complète du cytoplasme et la cellule entre dans une troisième phase caractérisée par le fait que le cytoplasme devient perméable à l'éosine. En même temps, il semble se réhydrater. Il prend un aspect aqueux et homogène dans lequel les mitochondries, restées jusqu'à ce moment intactes, apparaissent animées de mouvements browniens et se transforment en grosses vésicules. Bientôt le cytoplasme se distend et se dissémine dans la cavité cellulaire sous forme d'un précipité granulo-alvéolaire. La vacuole apparaît alors en quelque sorte isolée du cytoplasme désorganisé, en conservant son contour parfaitement régulier (isolement des vacuoles obtenu par De Vries et Tswett). Dans une phase ultérieure, cette vacuole disparaît à son tour. Le noyau, selon les cas, se gonfle et éclate, ou se contracte fortement.

La série des phénomènes peut s'expliquer comme il suit :

Dans les deux premières phases, il se produit une exosmose déterminant la contraction de la vacuole et la contraction partielle du cytoplasme, et, enfin, dans une troisième phase, la déshydratation du cytoplasme s'accentuant, la mort survient. Elle se traduit par une désorganisation de la paroi périplasmique qui détermine la vésiculation du chondriome, puis la coagulation du cytoplasme et du noyau. La vacuole, plus résistante, finit enfin par se résorber par la désorganisation de sa paroi.

Une série de faits ne me paraît pas favorable à l'idée de l'existence de membranes différenciées autour du cytoplasme et de la vacuole, au sens de De Vries. J'admets plus volontiers, avec Pfeffer, qu'il s'agit de membranes transitoires dues, en partie, à la tension superficielle, en partie à une propriété du cytoplasme de se coaguler au contact de l'eau. C'est la conclusion d'ailleurs à laquelle se sont ralliés depuis la majorité des physiologistes. La plupart des processus que j'ai décrits au cours de mon étude sur la plasmolyse ont été retrouvés par Küster dans une étude toute récente, mais l'auteur, ne connaissant pas mon travail, ne l'a pas cité.

III. — GRANULATIONS LIPOÏDES ET ESSENCES

[**130, 134, 137, 145, 146, 148, 152, 154, 156, 157, 159, 161, 165, 169, 170, 173, 174, 175, 177, 182, 187, 188, 190, 191, 192, 193, 195, 196, 198**].

A. — Granulations lipoïdes.

a) *Présence générale de granulations lipoïdes dans le cytoplasme* [**130, 134, 137, 146, 148, 152, 156, 157, 159, 161, 165, 169, 170, 173, 174, 175, 177, 182, 188, 190, 193, 198**]. — On admet en général, en cytologie animale, que les graisses

se forment dans l'intérieur des mitochondries. Je me suis attaché à étudier l'origine des graisses dans les cellules végétales et mes recherches ne m'ont pas permis de confirmer ce fait, comme on l'a déjà vu dans mon étude sur les Champignons.

J'ai montré plus haut (p. 76) que les plastes à tous les stades de leur évolution peuvent renfermer de nombreuses granulations osmioréductrices présentant les caractères des lipoïdes.

Dans la plupart des cellules végétales, on observe, dans le cytoplasme, de petits grains osmioréducteurs très visibles par suite de leur réfringence fort accusée qui paraissent correspondre aux microsomes des auteurs. Ce sont, d'après mes recherches, des grains, en général plus petits que les mitochondries granuleuses, dont il est facile de les distinguer par leur vive réfringence et leurs déplacements rapides dûs en partie peut-être à des mouvements browniens. Dans certains cas, ces grains peuvent grossir et prendre l'aspect de gros globules graisseux.

La quantité de ces grains varie beaucoup selon l'état de développement des cellules. Ces granulations, qui toutes se colorent par le Soudan, semblent avoir une constitution variable, selon les cas ; tantôt elles présentent les caractères des lipoïdes avec la méthode de Diettrich, tantôt ce sont de simples graisses neutres, parfois peut-être représentent-elles des essences.

On pourrait penser que ces granulations qui ont en général les mêmes caractères que celles que l'on rencontre dans les plastes se formeraient dans ceux-ci pour s'en détacher ensuite et émigrer dans le cytoplasme. Mais, ces granulations apparaissent tout aussi bien dans les cellules dont les plastes ne renferment jamais de granulations lipoïdes et l'on doit admettre qu'elles se forment directement dans le cytoplasme.

Mes recherches m'amènent à penser que le cytoplasme de la cellule végétale est constitué par un mélange d'albuminoïdes et de lipoïdes et que ces derniers, quand ils se trouvent en excès, sont capables de se séparer sous forme de granulations. La dégénérescence graisseuse ne serait que l'exagération de ce processus normal [**182**].

Dans un travail paru pendant la guerre et dont je n'avais pas eu connaissance, Arthur Meyer est arrivé à une conception tout à fait différente de la mienne. Ce savant a observé des granulations osmioréductrices analogues à celles que j'ai décrites. Il les considère comme des produits de déchets résultant de la photosynthèse. Selon lui elles ne représenteraient pas de graisses, mais de l'héxyléne-aldéhyde qui a été retiré des produits de distillation des plantes. Meyer leur donne le nom d'*Autoplastensekret.* Le même savant a retrouvé également des granulations de même nature dans le cytoplasme qu'il nomme *Mesekret* et qu'il considère comme résultant de l'émigration, dans le cytoplasme, de l'Autoplastensekret formé dans les plastes. Cette divergence d'opinion m'a amené à reprendre l'étude de ces granulations.

Dans une note publiée en collaboration avec M. Mangenot [**193, 198**], nous montrons que l'*Autoplastensekret* de A. Meyer offre tous les caractéres histochimiques des lipoïdes (coloration par le Soudan et la méthode de Diettrich) et ne présente pas la réaction de Schiff : elles ne paraissent donc pas être constituées par de l'héxylène-aldéhyde comme Mayer l'admet d'une manière toute gratuite. De plus l'*Autoplasten-*

sekret apparaît aussi bien dans les plastes dépourvus de chlorophylle, comme ceux des cellules épidermiques des pièces florales d'*Iris germanica*, que dans les chloroplastes et ne paraît aucunement en rapport avec la photosynthèse. Ce produit ne semble pas d'ailleurs représenter un déchet, car il se résorbe, dans l'*Iris*, au moment où apparaissent l'amidon et les pigments. Quant au *Mesekret*, il paraît avoir la même constitution que l'*Autoplastensekret*, mais n'a aucune relation d'origine avec ce dernier,

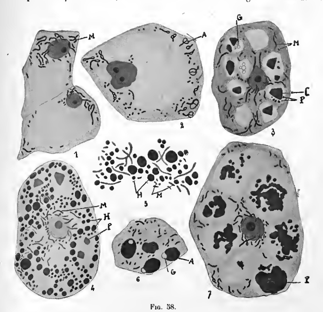


Fig. 58.

1, Cellule de l'albumen d'une très jeune graine — M. Mitochondries, méthode de Regaud, grossissement : 1 000. — 2, *Id.* Dans une graine un peu plus développée ; les chondriocontes élaborent des grains d'amidon composés A, (même méthode) — 3, *Id.* dans une graine, peu de temps avant la maturation : les vacuoles montrent un cristalloïde de protéine C, des granulations protéiques P, des globoïdes G. M, mitochondries (même méthode). — 4, *Id.* Par la méthode de Benda. Le cytoplasme renferme de nombreuses granulations graisseuses H, même méthode et même grossissement. — 5, Portion du cytoplasme d'une cellule semblable à la précédente, grossissement : 2.000. — 6, Cellule de l'albumen d'un grain au début de la germination. Les grains de protéine sont en voie de transformation en vacuoles : P, protéine en voie de dissolution.

étant donné qu'on le trouve non seulement dans les cellules où les plastes produisent des granulations graisseuses, mais aussi dans les cellules où les plastes n'en forment

jamais. Le *Mesekret* est, pour nous, une production cytoplasmique résultant sans doute d'une séparation des lipoïdes mêlés au cytoplasme.

b) *Origine et signification des oléoplastes* [**146, 177, 188, 198**]. — J'ai cherché à préciser l'origine des corps décrits dans les cellules épidermiques de certains végétaux sous le nom d'*oléoplastes*. L'étude de la formation de ces corps, dans les cellules épidermiques de Vanille et de *Funkia ovata*, m'a montré qu'ils paraissent résulter de la simple agglomération, sous certaines influences physiques inconnues, des granulations lipoïdes (microsomes) disséminées dans le cytoplasme. Ils ne présentent aucunement les caractères des plastes et le terme d'oléoplastes ne leur convient pas. Dans les cellules épidermiques des pétales de Tulipe, j'ai trouvé des formations semblables, non sous forme de petites granulations graisseuses réunies en amas comme dans les autres cas, mais à l'état de gros globules. Ces globules étaient généralement au nombre d'un seul par cellule. Ils paraissent également résulter de la fusion des microsomes et semblent constituer des graisses neutres mêlées à des lipoïdes.

c) *Formation de l'huile de Ricin* [**188, 198**]. — Mes recherches ont établi que l'huile de Ricin n'apparaît que dans la période qui précède immédiatement la maturation de la graine, au moment où les vacuoles sont entrain de se transformer en grains d'aleurone (fig. 58). Elle est précédée d'une période d'élaboration de grains d'amidon qui se résorbent au moment où l'huile commence à s'élaborer. L'huile apparaît brusquement et sous forme d'innombrables petites gouttelettes qui emplissent le cytoplasme et qui ensuite peuvent se fusionner en gros globules. L'observation de préparations traitées par la méthode de Benda, au moment où la graisse commence à se former, montre qu'il n'y a aucune relation entre l'huile colorée en brun par l'acide osmique et les mitochondries teintes en violet par le violet Cristal. L'huile de Ricin se forme donc directement dans le cytoplasme sans que le chondriome intervienne dans sa production, contrairement à ce qu'avait cru observer Mottier et à ce que l'on admet pour les cellules animales. Ces résultats confirment ceux obtenus dans les Champignons et que j'ai déjà mentionnés.

Il est intéressant de rappeler ici que, dans ses recherches sur l'albumen de Ricin, Leclerc du Sablon a montré, par des dosages, que l'huile de Ricin succède à une période de production d'hydrates de carbone aux dépens desquels elle paraît se former. Mes recherches effectuées par les méthodes cytologiques confirment les résultats obtenus par ce savant à l'aide des méthodes biochimiques.

B. — Mode cytologique de la formation des essences [195, 198].

Profitant d'une nouvelle méthode (bleu d'indophénol) indiquée par Zweibaum et Mangenot pour la coloration vitale des graisses et des essences, j'ai essayé, en collaboration avec Mangenot, d'étudier le mode de formation de l'essence dans les poils sécréteurs des feuilles de Noyer. Sur le vivant, ces cellules montrent un vacuome renfermant un pigment anthocyanique rouge et présentant l'aspect d'un réseau de Golgi tout à fait caractérisé. L'essence est difficile à observer dans le cytoplasme, mais apparaît nettement par sa réfringence quand elle est accumulée dans la poche sous-cuticulaire. L'acide osmique ne lui donne qu'une teinte brun très pâle et ne permet pas de la distinguer dans le cytoplasme. Par contre, le bleu d'indophénol la fait apparaître, dans le cytoplasme, sous forme d'une assez grande quantité de petites granulations colorées en bleu foncé, légèrement violacé; il colore aussi l'essence accumulée dans la poche cuticulaire. On peut se rendre compte ainsi que l'essence se forme toujours dans le cytoplasme et non dans les vacuoles, comme l'avait déjà montré F. Moreau. Les méthodes mitochondriales ne conservent pas l'essence, mais différencient le chondriome et permettent de démontrer que le chondriome ne participe nullement à la formation de l'essence et persiste jusqu'à la dégénérescence des poils sécréteurs, contrairement à l'opinion soutenue par F. Moreau. Enfin l'observation d'autres Végétaux dans lesquels les cellules sécrétrices d'essence ne renferment pas de composés phénoliques, ni de pigments anthocyaniques, nous a permis de démontrer que l'essence ne dérive pas des composés phénoliques, contrairement à ce qu'avait admis Politis.

Nos recherches ont été confirmées ensuite par des études plus approfondies et portant sur un grand nombre de Végétaux de mon élève Mlle Popovici.

IV. — STRUCTURE GÉNÉRALE DE LA CELLULE VÉGÉTALE [148, 157, 170, 173, 174, 175, 182, 196, 199, 202, 216].

Mes recherches montrent que le cytoplasme dans la cellule végétale se présente, en général, sous forme d'une substance d'aspect hyalin et homogène, contenant en suspension les éléments constitutifs suivants (fig. 40) :

1° *Les mitochondries*, formations bien déterminées par leurs caractères morphologiques et microchimiques, dont l'ensemble constitue le *chondriome*. Dans la cellule des Végétaux chlorophylliens, le chondriome est double et renferme deux catégories de

mitochondries : l'une correspondant aux mitochondries des cellules animales et l'autre supplémentaire, affectée à la photosynthèse et correspondant aux plantes ;

2° *Les vacuoles,* présentant des aspects très variés et renfermant, en solution colloïdale, plus ou moins condensée suivant les phases du développement, des substances de natures diverses (protéine, composés phénoliques, pigments anthocyaniques, métachromatine), et dont l'ensemble constitue le vacuome (Dangeard). Dans certaines phases (embryonnaires), le vacuome peut être constitué par des minuscules éléments d'aspect filamenteux et réticulaires de consistance semi-fluide, ressemblant parfois à des mitochondries sans en offrir d'ailleurs aucun de leurs caractères microchimiques. Ces éléments se gonflent ensuite par hydratation et deviennent des vacuoles liquides. Le vacuome est l'équivalent des canalicules de Holmgren et de l'appareil réticulaire de Golgi décrits dans les cellules animales ;

3° *Des granulations lipoïdes*, produits du métabolisme cellulaire dont la présence est presque constante.

Le schéma que nous avons donné de cette structure paraît avoir reçu l'approbation de M. Henriquez qui m'a fait l'honneur de la reproduire dans sa *Vie cellulaire*. Mes recherches ont eu, dans ces dernières années, une grande influence en cytologie animale (1) et ont été le point de départ d'une série de recherches qui ont amené à une connaissance plus exacte de la structure de cette cellule. Elles ont permis de mieux comprendre les caractères et l'évolution du chondriome et ont conduit à la découverte, dans la cellule animale, d'un vacuome semblable à celui de la cellule végétale. Elles ont par là jeté un jour nouveau sur la signification des appareils de Golgi et de Holmgren. Enfin elles ont contribué à éclairer la question de l'origine des grains de sécrétion qui très souvent paraissent n'être autre chose que des produits d'origine vacuolaire et souvent même des précipités, formés sous l'action des liquides fixateurs, de substances contenues dans les vacuoles à l'état de solution colloïdale.

(1) Voici quelques témoignages, pris au hasard, de l'influence de mes recherches sur la cytologie animale :

« La lecture des travaux de Guilliermond m'a permis de comprendre la signification de ces formations énigmatiques .. Les faits que j'ai observés correspondent parfaitement à ceux décrits par le distingué botaniste. Je me crois donc autorisé à rapprocher dans la cellule épididymaire les canalicules et vacuoles du trophosphonge de Holmgren du vacuome de la cellule végétale » (Benoit, *Recherches sur les voies excrétrices du testicule chez les Mammifères*, Strasbourg, 1925, pp. 58 et 59).

« Les recherches de Guilliermond et de son Ecole ont démontré l'indépendance absolue de ces deux formations (chondriome et vacuome) et ont apporté des faits d'une grande importance au point de vue du développement autant que des caractères histochimiques ». Ainsi s'exprime Corti (Studi di morfologia cellulare, *Ricerche di Morfologia*, t. IV, 1924, p. 398).

« Les plus récentes descriptions des cellules intestinales d'*Ascaris megalocephala* remontent à 1913... Depuis les travaux de Guilliermond et de ses élèves, en particulier, nous ont appris à démêler, dans le chondriome, différents stades évolutifs là où nos prédécesseurs ne voyaient guère qu'une seule catégorie d'organites appelés en bloc mitochondries ou plastosomes » (Dehorne, *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXIX, 1924, p. 1433).

V. — ORIENTATION DANS LES MÉTHODES CYTOLOGIQUES [129, 146, 198, 216].

Les recherches que je poursuis depuis près de vingt ans sur les constituants morphologiques du cytoplasme me paraissent avoir contribué, non seulement à une con-

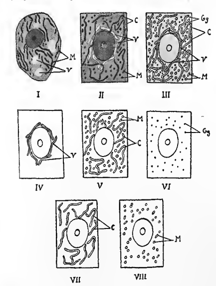


Fig. 59. — Schéma représentant la structure générale de la cellule, d'après mes recherches.

I, Cellule du foie de Grenouille par la méthode de Regaud. M, Mitochondries, V, Vacuoles. — II, Cellule épidermique de feuille d'*Iris germanica*, par la même méthode : C, Amyloplastes ; M, Mitochondries inactives ; V, Vacuoles filamenteuses non colorées. — III, Même cellule, colorée vitalement par le rouge neutre : V, Vacuoles filamenteuses, seules colorées, C, Chondriocontes, M, Mitochondries inactives ; Gg, Granules lipoïdes. — IV, Même cellule dans laquelle le système vacuolaire est seul représenté. — V, Id., avec le chondriome seul représenté. — VI, Id., avec les granules lipoïdes seuls représentés. — VII, Id., avec les amyloplastes seuls représentés. — VIII, Id., avec les mitochondries inactives seules représentées.

naissance plus exacte de la cellule et, par là, dépasser le domaine de la Botanique, mais encore avoir indiqué des orientations nouvelles dans les méthodes cytologiques.

La Cytologie, science récente, n'a pas toujours été abordée, il faut en convenir, avec un esprit critique suffisant. Ses méthodes, reposant sur la fixation suivie de coloration de la cellule, sont évidemment critiquables et dangereuses. La fixation, c'est-à-dire la coagulation rapide du protoplasme par divers agents chimiques, ayant pour but de mettre en évidence, par une coloration ultérieure, les éléments que l'on ne peut observer sur le vivant, sans tenir compte des altérations inévitables dues à la fixation, ne peut donner aucune certitude sur la réalité des éléments différenciés et risque fort de provoquer les plus graves erreurs. Aussi ne doit-on pas s'étonner que, dès sa naissance, la Cytologie ait été l'objet des légitimes critiques des physiologistes habitués à se placer sur un terrain expérimental plus sûr.

Je crois avoir contribué, par mes recherches, à orienter la cytologie vers des méthodes précises, aussi exemptes que possible de causes d'erreur, en faisant connaître des cellules très favorables à l'étude vitale, en comparant minutieusement l'aspect que présentent ces cellules sur le vivant, d'une part, et après fixation, d'autre part; puis, en déterminant par ce procédé l'action des fixateurs sur les cellules et la valeur des résultats qu'elles peuvent donner sur d'autres cellules moins propices à l'observation directe. J'ai, en outre, montré la nécessité qu'il y a, en cytologie, de ne jamais se localiser dans un domaine restreint et de toujours faire intervenir les données de la cytologie générale. Les recherches que j'ai faites sur les constituants du cytoplasme font ressortir la nécessité qu'il y a pour chacun d'eux de faire : 1° une analyse aussi précise que possible de leurs caractères morphologiques, physiques et microchimiques; 2° de suivre leur évolution à tous les stades du développement. Or il est bien évident qu'il est absolument nécessaire de ne pas observer cette évolution dans un seul groupe, mais dans toute la série végétale, et même de faire de nombreuses incursions dans le domaine de la cytologie animale. Par ce moyen, on pourra trouver des groupes où les phénomènes d'aspect plus schématique donneront la solution du problème que l'on ne pourrait résoudre en se bornant à l'étude d'un groupe spécial.

J'ai enfin contribué, aussi largement que possible, depuis mes premières recherches de 1913, à ressusciter la méthode trop négligée de l'observation vitale, en insistant sur l'intérêt qu'elle présente et les résultats importants qu'on peut en tirer. J'ai eu la satisfaction de voir que j'avais été suivi depuis, dans cette voie, par beaucoup de cytologistes, aussi bien dans le domaine de la cellule végétale que dans celui de la cellule animale.

Par l'emploi judicieux des méthodes de fixation et de coloration rigoureusement contrôlées par l'observation vitale, par une analyse microchimique détaillée des éléments qu'on met en évidence, et par l'étude de leur évolution, c'est-à-dire orientée de plus en plus dans la voie de l'histochimie, je pense que la cytologie est une science destinée à de rapides progrès et qui constituera bientôt un précieux auxiliaire de la physiologie générale.

VIII. — TRAITÉS. NOTICES. REVUES GÉNÉRALES

Les Levures. Encyclopédie scientifique. Bibliothèque de Botanique cryptogamique, préface du Dr Roux, Directeur de l'Institut Pasteur [**80**].

Je me suis efforcé de répondre, dans ce livre, au but de l'Encyclopédie scientifique, c'est-à-dire d'exposer méthodiquement l'ensemble de nos connaissances actuelles sur les Levures. L'ouvrage est divisé en deux parties. Dans la première, j'expose la morphologie, la sexualité, la physiologie et la phylogénie des Levures, les méthodes de culture, d'isolement et de détermination; enfin je donne une nouvelle classification des Levures fondée sur celle de Hansen, mais modifiée à la suite de mes propres recherches. Cette classification a été adoptée par la plupart des Traités. La seconde partie est consacrée à la description des espèces.

Je termine ce résumé par une appréciation de M. Pavillard : « Notre littérature mycologique s'est récemment enrichie de deux livres remarquables qui font le plus grand honneur à la Science française : *Les Champignons* de M. Vuillemin et *Les Levures* de M. Guilliermond. Très différents par leur allure générale, par leur inspiration didactique et leur objectif particulier, ces deux livres se complètent admirablement et seront bientôt dans toutes les mains. Parmi les multiples problèmes proposés à notre sagacité par le rapprochement critique de ces deux ouvrages, il en est un que les auteurs ont respectivement marqué d'une empreinte toute personnelle et très suggestive : c'est la question de la sexualité, de ses rapports avec l'évolution individuelle des Champignons. » (Pavillard : La Sexualité et l'alternance de génération chez les Champignons, *Revue scientifique*, 1913).

The Yeasts, by A. Guilliermond, translated and thoroughly revised in collaboration with the original Author, by Fred. W. Tanner [**163**].

Ce livre est la traduction du précédent, mise au courant des acquisitions nouvelles de la science.

Microbiology, a text-Book of microorganism general and applied, edited by Ch. E Marshall, Churchill, London [**128**].

J'ai participé à la rédaction de ce livre, en écrivant le chapitre I : Elements of microbial Cytology (pages 15 à 33, fig. 2 à 22), les paragraphes : Cytology of Molds (Chapitre II, pages 40 à 46, 8 figures), Cytology of Yeasts (Chapitre III, pages 61 à 70, 10 figures) et Cytology of Bacteria (Chapitre IV, pages 87 à 101, 10 figures).

Tabulæ botanicæ (en collaboration avec MM. Blakeslee, Baur et Jahn [**91**]).

Tableaux de botanique à l'usage des cours de l'Enseignement supérieur, accompagnés d'explications traduites en allemand, anglais et français. Ces tableaux sont au nombre de 17, et sont consacrés aux Myxobactéries, aux Myxomycètes, aux Mucorinées, aux Levures et à l'anatomie végétale.

La traduction française du texte a été faite par moi, ainsi que le tableau consacré aux Levures.

Clef dichotomique pour la détermination des Levures (Le François, éditeur, Paris [**226**]).

Mes études sur les Levures font que j'ai été souvent consulté par des médecins et des biochimistes pour la détermination d'espèces appartenant à ce groupe de Champignons. Profitant de l'expérience que j'ai acquise sur les Levures, l'idée m'est venue d'écrire une clef dichotomique permettant sans difficulté d'arriver à la détermination des genres. Cette clef n'amène naturellement pas à la détermination des espèces qui restent d'ailleurs, pour la plupart, mal caractérisées, mais indique, à la suite des genres, les différentes espèces qui s'y rapportent et j'ajoute un index bibliographique qui permet de se reporter à la description des espèces et de compléter la détermination.

La cellule végétale (en collaboration avec M. Mangenot). Encyclopédie scientifique, Bibliothèque de Botanique, Doin, éditeur, Paris (sous presse).

Ce livre en préparation est un traité de cytologie végétale où j'expose toutes les acquisitions récentes de cette science.

La Question de la sexualité des Ascomycètes et les récents travaux (1898-1906), parus sur ce groupe de Champignons [**44**].

Analyse des travaux de morphologie, de cytologie et de taxinomie parus sur ce groupe de Champignons, avec mise au point de la question si controversée de la sexualité des Ascomycètes.

Emile Chr. Hansen, Notice nécrologique (*Revue scientifique*, pages 761-762, 1909) [**59**].

Je résume l'œuvre de E. Chr. Hansen, mort le 29 août 1909, qui a été l'un des biologistes les plus remarquables de notre époque. Hansen a continué l'œuvre de

Pasteur et s'est attaché d'abord à perfectionner les méthodes de culture et d'isolement des Levures et a institué une technique précieuse pour la caractérisation des espèces. A signaler aussi ses remarquables études sur la variation des espèces et les mutations chez les Levures.

La Sexualité chez les Champignons [**62**] (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*).

« Depuis une quinzaine d'années des études cytologiques ont révélé chez les Champignons une variété extrême de processus se rattachant à la sexualité. Guilliermond, dont on connaît les travaux personnels sur les Levures, donne ici une revue très documentée de tous ces faits classés sous des rubriques correspondant à celle qu'Hartmann a adoptée pour les Protistes : amphimixie, automixie, apomixie.

« Si les interprétations théoriques sont encore sujettes à discussion, il y a là, en tout cas, un ensemble considérable de faits particulièrement intéressants au point de vue de la conception générale de la réduction chromatique et de la fécondation. » (Analyse de Ch. Pérez).

Les Progrès de la cytologie des Champignons, 1913 [**97**].

« Guilliermond consacre un article étendu à l'exposé des connaissances acquises sur la cytologie des Champignons, au cours de ces dernières années. La structure générale des Champignons, les phénomènes cytologiques de la sécrétion, de la sexualité, la cytologie des appareils fructifères, l'évolution nucléaire des Champignons supérieurs y sont étudiés en détail.

« Grâce à la documentation précise et à l'impartialité des appréciations, cette revue sera utile à ceux qui y chercheront les récentes acquisitions de la structure intime des Champignons autant qu'à ceux qui voudront se renseigner sur la part exacte qui revient à chacun des auteurs qui l'ont étudiée. Guilliermond termine son exposé en formulant le désir qu'à côté des recherches sur la sexualité qui ont été la principale préoccupation des cytologistes, on fasse une place plus grande aux phénomènes cytologiques de la sécrétion et à l'étude des constituants du protoplasme. » (Analyse de F. Moreau).

Revue générale des travaux de cytologie végétale parus de 1910 à 1925 [**212**].

J'ai publié en collaboration avec Mangenot, dans la *Revue générale de Botanique*, un important exposé des travaux de cytologie végétale parus de 1910 à 1925. Cette revue présente un intérêt spécial en raison des progrès considérables réalisés dans cette science depuis 1910. Nous y avons analysé avec le plus d'impartialité possible, mais avec un esprit critique et en profitant de l'expérience acquise par nos recherches personnelles sur la question, les travaux parus depuis cette dernière date. Nous nous sommes efforcés de dégager les faits acquis, des hypothèses et de les mettre en rela-

tion avec les données de la cytologie animale. Nous insistons sur les progrès de la technique, sur les données apportées par l'étude expérimentale de la cellule et de sa constitution colloïdale, par l'emploi des procédés de microdissection, de colorations vitales, etc., et nous y exposons les récentes acquisitions sur le chondriome et sur le vacuome. Enfin une partie importante de notre revue est consacrée aux travaux relatifs au noyau, à sa division et à l'importance que l'on a attribuée aux chromosomes dans la génétique.

Cette revue se termine par une conclusion. Dans celle-ci nous dégageons l'importance des résultats définitivement acquis sur les constituants morphologiques du cytoplasme en souhaitant que des études d'ordre physico-chimique permettent de faire mieux connaître leur rôle physiologique. Nous faisons ressortir, d'autre part, que malgré le grand intérêt des recherches faites sur les chromosomes, il semble qu'on ait exagéré leur rôle dans l'hérédité et que tant qu'on n'aura pas prouvé que les chromosomes conservent leur individualité dans le noyau quiescent, on ne doit pas se départir d'une sage réserve.

J'ai publié également diverses mises au point sur la question de la structure des cellules végétales, notamment dans une conférence faite au Congrès des Anatomistes (Lyon, 1923) [**196**], dans un article destiné au jubilé de Mendel [**202**], et dans une revue publiée dans le *Bulletin d'Histologie* appliquée à la physiologie et à la pathologie [**203**].

J'ai participé d'une manière plus ou moins régulière, par des analyses critiques [**185**], à la rédaction d'un certain nombre de périodiques scientifiques. Je mentionnerai le *Bulletin de l'Institut Pasteur*, la *Revue Générale de Botanique*, le *Centralblatt für Bakteriologie* et l'*Année Biologique* dont le Comité de rédaction me compte parmi ses membres [**231**].

LISTE GÉNÉRALE CHRONOLOGIQUE

DES PUBLICATIONS DE M. ALEXANDRE GUILLIERMOND

1900

1. Etude sur le développement et la structure de l'*Oidium lactis* (*Rev. Gén. Bot.*, t. XII, p. 465 à 470, 11 figures de texte).

1901

2. Recherches sur la structure de quelques Champignons inférieurs (*C. R. Acad. Sc.*, 21 janvier, t. CXXXII, p. 175).
3. Recherches histologiques sur la sporulation des Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 13 mai, t. CXXXII, p. 1194).
4. Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 22 juillet, t. CXXXIII, p. 1252).
5. Considérations sur la sexualité de certaines Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 23 déc.).

1902

6. Recherches cytologiques sur les Levures et quelques moisissures à formes-levures (Thèse de Doctorat ès Sc. de la Sorbonne, 29 pages, 8 figures de texte et 12 planches).
7. Recherches cytologiques sur les Levures (*Rev. Gén. Bot.*, t. XV, p. 49 à 107, 7 figures de texte et 9 planches).
8. Sur la présence des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries (*Lyon Médical*, 13 juillet, 4 pages .
9. Observations cytologiques sur la germination des spores du *Saccharomyces Ludwigii* (*C. R. Acad. Sc.*, 27 octobre, t. CXXXV, p. 708).

1903

10. Recherches sur la germination des spores dans le *Saccharomyces Ludwigii* [Hansen] (*Bull. Soc. Mycol. de France*, t. XIX, 5 figures de texte et 1 planche).
11. Remarques sur la copulation de *Schizosaccharomyces mellacei* (*Ann. Soc. Bot. de Lyon*, avril, 7 pages, 5 figures).
12. Etude sur la structure du *Botrytis cinerea* (*Centralblatt f. Bakter.*, t. X, p. 275 à 320, 14 figures de texte). En collaboration avec M. J. Beauverie.
13. Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 26 janvier, t. CXXXVI, p. 253).
14. Contribution à l'étude de l'épiplasme des Ascomycètes et recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons (*Ann. Mycol.*, t. I, p. 202 à 215, 2 planches).
15. Nouvelles recherches sur l'épiplasme des Ascomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 15 juin, t. CXXXVI, p. 1487).
16. Contribution à l'étude cytologique des Ascomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 30 nov., t. CXXXVII, p. 938).

1904

17. Sur le noyau de la Levure (*Ann. Mycol.*, t. II, p. 185 à 189, 1 figure de texte).
18. Sur la karyokinèse de *Peziza rutilans* (*C. R. Soc. Biol.*, 5 mars, t. LVI, p. 412).
19. Contribution à l'étude de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes (*Rev. Gén. Bot.*, t. XVI, p. 50 à 77, 3 figures de texte et 2 planches).
20. Recherches sur la karyokinèse des Ascomycètes (*Rev. Gén. Bot.*, t. XVI, p. 129 à 134, 2 planches).
21. Remarques sur la cytologie des Ascomycètes (*C. R. Soc. Biol.*, 23 juillet, t. LVII, p. 208).
22. Recherches sur la germination des spores chez quelques Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 5 décembre, t. CXXXIX, p. 988).

1905

23. La Morphologie et la Cytologie des Levures (*Bull. Inst. Pasteur*, 11 mars, t. III, 19 pages, 21 figures de texte).
24. Sur le nombre des chromosomes chez les Ascomycètes (*C. R. Soc. Biol.*, 11 février t. LVIII, p. 273).
25. Remarques sur la karyokinèse des Ascomycètes (*Ann. Mycol.*, t. III, p. 343 à 361, 3 planches).
26. A propos de la communication de M. Behring au Congrès de la Tuberculose (*Lyon Médical*, 23 octobre, 6 pages).

27. Recherches sur la germination des spores et la conjugaison chez les Levures (*Rev. Gén. Bot.*, t. XVII, p. 337 à 377, 10 figures de texte et 4 planches).
28. Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées (*C. R. Acad. Sc.*, 28 août, t. CXLI, p. 427).
29. L'Appareil chromidial des Cyanophycées et sa division (*C. R. Soc. Biol.*, 16 déc., t. LIX, p. 639).
30. Sur les grains de sécrétion des Cyanophycées (*C. R. Soc. Biol.*, 16 décembre, t. LIX, p. 641).

1906

31. Les Corpuscules métachromatiques ou grains de volutine (*Bull. Inst. Pasteur*, 15 mars, t. IV, 14 pages, 8 figures de texte).
32. Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées (*Rev. Gén. Bot.*, t. XVIII, p. 392 à 428, 4 figures de texte et 3 planches).
33. Note préliminaire sur les globoïdes et certaines granulations des graines, ressemblant par quelques-unes de leurs propriétés aux corpuscules métachromatiques (*C. R. Acad. Sc.*, 9 avril, t. CXLII, p. 897). En collaboration avec M. Beauverie.
34. Contribution à l'étude cytologique des Bactéries (*C. R. Acad. Sc.*, 5 juin, t. CXLII, p. 1287).
35. A propos de l'origine des Levures (*C. R. Soc. Biol.*, t. LX, p. 316).
36. Quelques faits relatifs à la cytologie des graines de Graminées lors de la germination (*C. R. Ass. Fr. Av. Sc. Congrès de Lyon*, p. 391 à 395).
37. Observations cytologiques sur la germination des graines de Graminées (*C. R. Acad. Sc.*, 26 novembre, t. CXLIII, p. 834).

1907

38. La Cytologie des Bactéries (*Bull. Inst. Pasteur*, 30 avril, t. IV, 22 pages, 9 figures de texte).
39. L'Origine des Levures (*Ann. Mycol.*, t. V, 23 figures de texte, p. 50 à 69).
40. Remarques sur la structure des Bacilles endosporés (*C. R. Soc. Biol.*, 19 janvier, t. LXII, p. 78, 1 figure de texte).
41. Sur les grains d'aleurone des Graminées (*C. R. Soc. Biol.*, 27 juillet, t. LXIII, p. 216).
42. Nouvelles recherches sur la cytologie des graines de Graminées (*C. R. Acad. Sc.*, 22 juillet, t. CXLV, p. 272).
43. Remarques sur la structure du grain d'aleurone des Graminées (*C. R. Acad. Sc.*, 4 novembre, t. CXLV, p. 768).

1908

44. La Question de la sexualité chez les Ascomycètes et les récents travaux (1898-1906) parus sur ce groupe de Champignons (*Rev. Gén. Bot.*, 1908, t. XX, p. 32 à 94, 81 figures de texte).

45. Caractères histochimiques des granulations des Mastzellen et rapport de ces corps avec la volutine des Protistes (*C. R. Soc. Biol.*, 28 février, t. LXIV, p. 307). En collaboration avec le Dr Mawas.

46. Caractères histochimiques des globoïdes de l'aleurone (*C. R. Soc. Biol.*, 21 mars, t. LXIV, p. 482). En collaboration avec M. Beauverie.

47. Quelques remarques sur les globoïdes des grains d'aleurone. Réponse à MM. Chifflot et Kimpflin (*C. R. Soc. Biol.*, 27 juin, t. LXIV, p. 1143).

48. Sur le développement du *Glæosporium nervisequum* (*C. R. Acad. Sc.*, 30 mars, t. CXLVI, p. 704).

49. Recherches cytologiques sur la germination des graines de quelques Graminées et contribution à l'étude des grains d'aleurone (*Arch. d'Anat. microsc.*, août, t. X, 13 figures de texte et 4 planches, p. 142 à 226).

50. Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endosporés (*Arch. f. Protistenk.*, t. XII, 5 figures de texte et 3 planches, p. 9 à 43).

51. Contribution à l'étude cytologique des Endomyces : *Saccharomycopsis capsularis* et *Endomyces fibuliger* (*C. R. Acad. Sc.*, 14 décembre, t. CXLVII, p. 1329).

52. Recherches sur le développement du *Glæosporium nervisequum* (*Gnomonia veneta*) et sa prétendue transformation en Levures (*Rev. Gén. Bot.*, t. XX, p. 324 à 385, 10 figures de texte et 6 planches).

1909

53. Sur la reproduction sexuelle de l'*Endomyces Magnusii* (Ludwig) (*C. R. Acad. Sc.*, 5 avril, t. CXLVIII, p. 941).

54. Quelques remarques sur l'*Eremascus fertilis* (Stoppell) et sur ses rapports avec l'*Endomyces fibuliger* (Lindner) (*C. R. Soc. Biol.*, 5 juin, t. LXVI, p. 925).

55. Sur la phylogénèse des Levures (*C. R. Soc. Biol.*, 19 juin, t. LXVI, p. 998).

56. Remarques critiques sur différentes publications parues sur la cytologie des Levures et quelques observations nouvelles sur la structure de ces Champignons (*Centralblatt für Bakteriologie*, t. XXVI, 6 figures de texte, p. 578 à 589).

57. Remarques sur la phylogénèse des Levures. A propos des publications récentes de MM. Klöcker et Dombrowski sur les *Endomyces* (*Centralblatt für Bakteriologie*, t. XXIV, p. 480 à 482).

58. Remarques sur l'évolution nucléaire et les mitoses de l'asque chez les Ascomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, 2 août, t. CXLIX, p. 350).

59. Emile Chr. Hansen, Nécrologie (*Rev. Scient.*, 11 décembre, n° 24, p. 761 à 763).
60. Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Endomycétacées (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXI, p. 353 à 401, 33 figures de texte et 6 planches).
61. Observations sur la cytologie d'un Bacille (*C. R. Soc. Biol.*, 10 juillet, t. LXVII, p. 102, 1 figure de texte).

1910

62. La Sexualité chez les Champignons (*Bul. Sc. France et Belgique*, t. XLIV, p. 110 à 196, 41 figures de texte).
63. Quelques remarques sur la copulation des Levures (*Ann. Mycol.*, t. VIII, p. 288 à 297, 10 figures de texte).
64. A propos des corpuscules métachromatiques ou des grains de volutine (*Arch. für Protistenk.*, t. XIX, p. 269 à 309, 7 figures de texte).
65. A propos de la structure des Bacilles endosporés. Réponse à M. E.-M. Menel (*Arch. für Protistenk.*, t XIX, p. 1 à 18).
66. Nouvelles observations sur la cytologie des Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 29 mars, t. CL, p. 835).
67. Remarques sur le développement de l'*Endomyces fibuliger* (Lindner) (*C. R. Soc. Biol.*, 19 février, t. LXVIII, p. 318).
68. Sur un curieux exemple de parthénogénèse observé dans une Levure (*C. R. Soc. Biol.*, 26 février, t. LXVIII, p. 363, 1 figure de texte).

1911

69. Sur la reproduction du *Debaryomyces globosus* et sur quelques phénomènes de rétrogradation de la sexualité observés chez les Levures (*C. R. Acad. Sc.*, 20 février, t. CLII, p. 448).
70. Sur la régression de la sexualité chez les Levures (*C. R. Soc. Biol.*, 25 février, t. LXX, p. 277, 1 figure de texte).
71. Sur un exemple de copulation hétérogamique observé chez une Levure (*C. R. Soc. Biol.*, 18 mars, t. LXX, p. 442, 1 figure de texte).
72. Aperçu sur l'évolution nucléaire des Ascomycètes et nouvelles observations sur les mitoses des asques (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXIII, p. 89 à 120, 8 figures de texte et 2 planches).
73. Sur les mitochondries des cellules végétales (*C. R. Acad. Sc.*, 17 juillet, t. CLII, p. 199, 1 figure de texte).
74. Sur la formation des chloroleucites aux dépens des mitochondries (*C. R. Acad. Sc.*, 24 juillet, t. CLIII, p. 290, 1 figure de texte).
75. Sur l'origine des leucoplastes et sur les processus cytologiques de l'élaboration de l'amidon dans le tubercule de Pomme de terre (*C. R. Acad. Sc.*, 26 décembre, t. CLIII, p. 1492).

76. Sur une Levure nouvelle isolée des crachats humains au cours d'un cancer secondaire du poumon (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 952).
77. Le Développement et la Phylogénie des Levures (*Rev. Gén. Sc. pures et appliquées*, 15 août, 11 pages, 28 figures de texte).
78. Die geschlechtliche Vermehrung der Hefepilze (*Mikrokosmos*, t. V, p. 101 à 106, 9 figures de texte).
79. Die Stammesgeschichte der Hefepilze (*Mikrokosmos*, t. V, p. 121 à 122, 3 figures de texte).

1912

80. *Les Levures*, Encyclopédie scientifique, publiée sous la direction du Dr Toulouse. Bibliothèque de Botanique Cryptogamique, directeur, L. Mangin. Préface du Dr E. Roux, 565 pages, 163 figures de texte, Octave Doin et fils, édit., Paris, 1911.
81. Nouvelles remarques sur l'origine des chloroleucites (*C. R. Soc. Biol.*, 20 janvier, t. LXXII, p. 86).
82. Sur les leucoplastes de *Phajus grandifolius* et leur identification avec les mitochondries (*C. R. Acad. Sc.*, 29 janvier, t. CLIV, p. 186).
83. Quelques remarques nouvelles sur le mode de formation de l'amidon dans la cellule végétale (*C. R. Soc. Biol.*, 17 février, t. LXXII, p. 276, 1 figure de texte).
84. Sur le mode de formation des chloroleucites dans les bourgeons des plantes adultes (*C. R. Soc. Biol.*, 16 mars, t. LXXII, p. 459, 7 planches).
85. Sur les mitochondries des organes sexuels des Végétaux (*C. R. Acad. Sc.*, 1er avril, t. CLIV, p. 888).
86. Mitochondries et plastes végétaux (*C. R. Soc. Biol.*, 6 juillet, t. LXXIII, p. 7).
87. Sur les différents modes de la formation des leucoplastes (*C. R. Soc. Biol.*, 13 juillet, t. LXXIII, p. 110).
88. Sur le mode de formation du pigment dans la racine de carotte (*C. R. Acad. Sc.*, 5 août, t. CLV, p. 411).
89. Nouvelles observations sur la sexualité des Levures : 1° Existence d'une copulation hétérogamique observée dans une espèce nouvelle ; 2° Sur la copulation de *Debaryomyces globosus* ; 3° Sur les phénomènes de rétrogradation de la sexualité constatés dans plusieurs Levures (*Arch. f. Protistenk.*, t. XXVIII, p. 52 à 77, 6 figures de texte et 4 planches).
90. Recherches sur le mode de formation de l'amidon et sur les plastes des Végétaux (leuco-, chloro- et chromoplastes). Contribution à l'étude des mitochondries dans les Végétaux (*Arch. d'Anat. microsc.*, décembre, t. XIV, p. 310 à 428, 11 figures de texte et 6 planches).

1913

91. *Tabulæ Botanicæ*, en collaboration avec MM. A. F. Blakeslee (Storrs, Conn. U. S. A.), E. Baur (Berlin) et E. Jahn (Berlin) (Borntraeger, éd., Berlin).

92. Sur les mitochondries des Champignons (*C. R. Soc. Biol.*, 15 mars, t. LXXIV, p. 618, 1 figure de texte).

93. Nouvelles observations sur le chondriome des Champignons (*C. R. Acad. Sc.*, 9 juin, t. CLVI, p. 1781, 1 figure de texte).

94. Sur la formation de l'anthocyane au sein des mitochondries (*C. R. Acad. Sc.*, 23 juin, t. CLVII, p. 1924).

95. Sur le rôle du chondriome dans l'élaboration des produits de réserve des Champignons (*C. R. Acad. Sc.*, 7 juillet, t. CLVII, p. 63).

96. Sur la signification du chromatophore des Algues (*C. R. Soc. Biol.*, 19 juillet, t. LXXV, p. 85).

97. Les Progrès de la cytologie des Champignons (*Progressus Rei Botanicæ*, 82 figures de texte, p. 390 à 542).

98. Sur la participation du chondriome des Champignons dans l'élaboration des corpuscules métachromatiques (*Anatomischer Anzeiger*, t. XLIV, p. 333 à 342, 3 figures de texte).

99. Sur l'étude vitale du chondriome de l'épiderme des pétales d'*Iris germanica* et de son évolution en leuco- et chromoplastes (*C. R. Soc. Biol.*, 14 juin, t. LXXIV, p. 1280, 1 planche).

100. Recherches comparatives sur le développement de l'*Endomyces fibuliger* et de l'*Endomyces capsularis*, et nouvelles remarques sur la signification des anastomoses qui se produisent dans l'*Endomyces fibuliger* (Extrait du livre *Jubilaire Van Laer*, p. 36 à 71, 3 planches, 7 figures de texte).

101. Nouvelles remarques sur la signification des plastes de W. Schimper par rapport aux mitochondries actuelles (*C. R. Soc. Biol.*, t LXXV, p. 437, 1 figure de texte).

102. Quelques remarques nouvelles sur la formation des pigments anthocyaniques au sein des mitochondries. A propos d'une note récente de M. Pensa (*C. R. Soc. Biol.*, 29 novembre, t. LXXV, p. 478, 1 planche).

103. Nouvelles observations sur le chondriome de l'asque de *Pustularia vesiculosa*. Evolution du chondriome pendant les mitoses et la formation des spores (*C. R. Soc. Biol.*, 20 décembre, t. LXXV, p. 646, 1 figure de texte).

104. Nouvelles recherches cytologiques sur la formation des pigments anthocyaniques (*C. R. Acad. Sc.*, 24 novembre, t. CLVII, p. 1000).

1914

105. Bemerkungen über die Mitochondrien der vegetativen Zellen und ihre Verwandlung in Plastiden. Eine Antwort auf einige Einwürfe (*Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, t. XXXII, p. 282 et 301, 2 figures de texte).

106. Nouvelles remarques sur les plastes des Végétaux. Evolution des plastes et des mitochondries dans les cellules adultes (*Anatomischer Anzeiger*, t. XLVI, p. 566 à 574, 1 planche).

107. Etat actuel de la question de l'évolution et du rôle physiologique des mitochondries, d'après les travaux récents de Cytologie végétale (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXVI, p. 129 à 182, 15 figures de texte).

108. Recherches cytologiques sur la formation des pigments anthocyaniques. Nouvelle contribution à l'étude des mitochondries (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXV *bis*, p. 295 à 340, 3 planches).

109. Sur le mode de formation de l'amidon dans les radicules de Maïs et de Ricin (*Arch. d'Anat. Microsc.*, t. XII, p. 540 à 554, 1 planche).

110. Monographie des Levures rapportées d'Afrique occidentale par la Mission Chevalier (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 9ᵉ série, t. XIX, 32 pages, 2 figures de texte et 5 planches).

111. Sur la formation de l'amidon dans l'embryon avant la maturation de la graine (*C. R. Soc. Biol.*, 4 avril, t. LXXVI, p. 167, 1 planche).

1915

112. Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'*Iris germanica*. I. Elaboration d'amidon et de xanthophylle au sein des chondriocontes (*C. R. Soc. Biol.*, 15 mai, t. LXXVIII, p. 241, 1 planche).

113. Nouvelles observations vitales sur le chondriome des cellules épidermiques de la fleur d'*Iris germanica*. II. Production de globules graisseux au sein des mitochondries et des plastes. Fixation du chondriome (*C. R. Soc. Biol.*, 15 mai, t. LXXVIII, 1 figure de texte).

114. Sur un exemple de copulation hétérogamique observé dans une nouvelle Levure, *Zygosaccharomyces Nadsoni* (*C. R. Soc. Biol.*, 6 novembre, t. LXXVIII, p. 568, 1 figure de texte).

115. Quelques observations cytologiques sur le mode de formation des pigments anthocyaniques dans les fleurs (*C. R. Acad. Sc.*, 26 octobre, t. CLXI, p. 494).

116. Sur l'origine des pigments anthocyaniques (*C. R. Acad. Sc.*, 8 novembre, t. CLXI, p. 567).

117. Recherches sur le chondriome chez les Champignons et les Algues. Troisième contribution à l'étude des mitochondries (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXVII, p. 193 à 260, 6 planches et 4 figures de texte).

1916

118. Sur une méthode permettant de colorer dans la cellule végétale les grains d'amidon au sein des mitochondries (*C. R. Soc. Biol.*, 21 octobre, t. LXXIX, p. 806, 1 figure de texte).

119. Nouvelles recherches sur les corpuscules métachromatiques des Champignons (*C. R. Soc. Biol.*, 16 décembre, t. LXXIX, p. 1091).

1917

120. Recherches sur l'origine des chromoplastes et le mode de formation des pigments du groupe des xanthophylles et des carotines (*C. R. Acad. Sc.*, 29 janvier, t. CLXIV, p. 232).

121. Observations vitales sur le chondriome de la fleur de Tulipe (*C. R. Acad. Sc.*, 5 mars, t. CLXIV, p. 407).

122. Sur les altérations et les caractères du chondriome dans les cellules épidermiques de la fleur de Tulipe (*C. R. Acad. Sc.*, 16 avril, t. CLXIV, p. 609).

123. Contribution à l'étude de la fixation du cytoplasme (*C. R. Acad. Sc.*, 23 avril, t. CLXIV, p. 643).

124. Sur la division nucléaire des Levures (*Ann. Inst. Pasteur*, 3 mars, t. XXXI, p. 100 à 110, 1 planche, Jubilé E. Metchnikoff).

125. Levaduras del pulques (*Boletin de la Direccion de Estudios biologicos*, t. II, p. 22 à 26, 14 planches).

126. Nouvelles recherches sur les caractères vitaux et les altérations du chondriome dans les cellules épidermiques des fleurs (*Mém. Soc. Biol.*, 30 juin, t. LXXX, p. 644 à 650, 2 planches).

127. Sur les phénomènes cytologiques de la dégénérescence des cellules épidermiques pendant la fanaison des fleurs (*C. R. Soc. Biol.*, 28 juillet, t. LXXX, p. 726 à 729, 1 planche).

128. *Microbiology*, a text-Book of microorganism general and applied, dirigé par le professeur Ch. E. Marshall, Churchill, London (collaboration à ce Traité).

129. La Cytologie, ses méthodes et leur valeur (*Rev. Gén. Sc. pures et appl.*, 30 mars, p. 166 à 174 et 208 à 216, 16 figures de texte).

130. Sur la nature et le rôle des mitochondries des cellules végétales. Réponse à quelques objections (*Mém. Soc. Biol.*, 8 décembre, t. LXXX, p. 917 à 920, 2 planches).

1918

131. Sur la plasmolyse des cellules épidermiques de la feuille d'*Iris germanica* (*C. R. Acad. Sc.*, 4 février, t. CLXVI, p. 222).

132. Sur le chondriome des Champignons. A propos des récentes recherches de M. Dangeard (*C. R. Soc. Biol.*, 13 avril, t. LXXXI, p. 328, 1 planche).

133. Sur la plasmolyse des cellules épidermiques des pétales de Tulipe (*C. R. Soc. Biol.*, 27 avril, t. LXXXI, p. 427 à 431, 1 planche).

134. Sur la nature et la signification du chondriome (*C. R. Acad. Sc.*, 22 avril, t. LXVI, p. 649).

135. Mitochondries et système vacuolaire (*C. R. Acad. Sc.*, 27 mai, t. CLXVI, p. 862).

136. Sur la métachromatine et les composés phénoliques de la cellule végétale (*C. R. Acad. Sc.*, 10 juin, t. CLXVI, p. 958).

137. Sur la signification du chondriome (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXX, p. 161 à 177, 13 planches).

138. Sur l'origine mitochondriale des plastides (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXVII, p. 430).

139. *Zygosaccharomyces Nadsoni* : Nouvelle espèce de Levures à conjugaison hétérogamique (*Bul. Soc. Mycol. de France*, t. XXXIV, 14 pages, 1 figure de texte et 4 planches).

1919

140. Mitochondries et symbiotes (*C. R. Soc. Biol.*, 29 mars, t. LXXXII, p. 309 à 312).

141. Sur une nouvelle Levure à copulation hétérogamique (*C. R. Soc. Biol.*, 10 mai, t. LXXXII, p. 466, 1 planche).

142. Sur les caractères du chondriome dans les premiers stades de la différenciation du sac embryonnaire de *Tulipa suaveolens* (*C. R. Soc. Biol.*, 26 juillet, t. LXXXII, p. 976, 1 planche).

143. Sur les chondriomes et les formations ergastoplasmiques du sac embryonnaire des Liliacées (*C. R. Acad. Sc.*, 11 août, t. CLXIX, p. 600, 1 figure de texte).

144. Sur l'origine mitochondriale des plastides. A propos d'un travail de M. Mottier (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 10ᵉ série, t. XIV, p. 226 à 246, 10 figures de texte, 5 planches).

145. Sur un nouveau Champignon présentant des caractères intermédiaires entre les Levures et les *Endomyces* (*C. R. Soc. Biol.*, 20 décembre, t. LXXXII, p. 1343, 1 planche). En collaboration avec le Dʳ G. Péju.

146. Observations vitales sur le chondriome des Végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. Contribution à l'étude physiologique de la cellule (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXXI, p. 372 à 683, 35 figures de texte et 45 planches).

1920

147. Sur l'évolution du chondriome dans la cellule végétale (*C. R. Acad. Sc.*, 19 janvier, t. CLXX, p. 194, 1 figure de texte).

148. Sur les éléments figurés du cytoplasme (*C. R. Acad. Sc.*, 8 mars, t. CLXX, p. 612, 1 figure de texte).

149. Sur la métachromatine des Champignons (*C. R. Soc. Biol.*, 21 février, t. LXXXIII, p. 202, 1 planche).

150. Sur l'origine des vacuoles dans les cellules de quelques racines (*C. R. Soc. Biol.*, 27 mars, t. LXXXIII, p. 411, 1 planche).

151. Sur la coexistence dans la cellule végétale de deux variétés distinctes de mitochondries (*C. R. Soc. Biol.*, 27 mars, t. LXXXIII, p. 408, 1 planche).

152. Observations vitales du chondriome des Champignons (*C. R. Soc. Biol.*, t LXXXIII, p. 404, 1 planche).

153. Sur l'évolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen de *Lilium candidum* (*C. R. Acad. Sc.*, 26 avril, t. CLXX, p. 1003, 1 figure de texte).

154. Sur les relations entre le chondriome des Champignons et la métachromatine (*C. R. Soc. Biol.* 17 mai, t. LXXXIII, p. 855, 1 planche).

155. A propos de la métachromatine (*C. R. Soc. Biol.*, 17 mai, t. LXXXIII, p. 853).

156. Observations vitales sur le chondriome d'une Saprolégniacée (*C. R. Acad. Sc.*, 31 mai, t. CLXX, p. 1329, 1 figure de texte).

157. Sur la structure de la cellule végétale (*C. R. Acad. Sc.*, 21 juin, t. CLXX, p. 1515).

158. Sur le sphérome de M. Dangeard (*C. R. Soc. Biol.*, 21 juin, t. LXXXIII, p. 975, 1 planche).

159. A propos de deux notes récentes de M. Dangeard (*C. R. Soc. Biol.*, 21 juin, t. LXXXIII, p. 979).

160. Nouvelles remarques sur la coexistence de deux variétés de mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens (*C. R. Soc. Biol.*, 10 juillet, t. LXXXIII, p. 1046, 1 planche).

161. Nouvelles observations cytologiques sur *Saprolegnia* (*C. R. Acad. Sc.*, 26 juillet, t. CLXXI, p. 266, 1 figure de texte).

162. Les Levures des saucissons (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XXXIV, p. 129 à 236, 6 figures de texte). En collaboration avec M. E. Cesari.

163. *The Yeasts*, translated and thoroughly revised in collaboration with the original Author, by Fred. W. Tanner, 424 pages, 163 figures de texte, John Willy and Sons, New-York.

164. Observations cytologiques sur le cytoplasme d'un *Saprolegnia* (*La Cellule*, t. XXX, p. 356 à 378, 2 planches doubles).

165. A propos de récentes notes de M. Dangeard (*Bul. Soc. Bot. de France*, t. XX, p. 170, 5 figures de texte).

166. Une nouvelle espèce de Levure du genre *Debaryomyces*. *D. Klockeri*, n. sp. (*Bull. Soc. Myc. de France*, t. XXXVI, p. 104 à 171, 5 planches). En collaboration avec le Dr Péju.

167. *Zygosaccharomyces Pastori*, nouvelle espèce de Levure à copulation hétérogamique (*Bul. Soc. Myc. France*, t. XXXVI, p. 203 à 210, 2 planches et 1 figure de texte).

168. Nouvelles recherches sur l'appareil vacuolaire dans les Végétaux (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXI, p. 1071, 1 planche).

169. Caractères différentiels de l'appareil vacuolaire et du chondriome dans la cellule végétale (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 1435, 1 planche).

1921

170. A propos de la constitution morphologique du cytoplasme (*C. R. Acad. Sc.*, 10 janvier, t. CLXXII, p. 121, 1 figure de texte).

171. A propos d'un travail de Meves sur le chondriome de la cellule végétale (*C. R. Soc. Biol.*, 17 janvier, t. LXXXIV, p. 202, 1 planche).

172. Sur les caractères et l'évolution du chondriome dans les Végétaux chlorophylliens (*C. R. Soc. Biol.*, 17 janvier, t. LXXXIV, p. 197, 1 planche).

173. La Constitution morphologique du cytoplasme dans la cellule végétale (*Rev. Gén. Sc. pures et appl.*, 15 mars, 32e année, n° 5, p. 133 à 140, 4 figures de texte).

174. Les constituants morphologiques du cytoplasme, d'après les recherches récentes de Cytologie végétale (*Bull. Sc. France et Belgique*, t. LIV, p. 466 à 512, 24 figures de texte).

175. Sur les éléments figurés du cytoplasme chez les Végétaux ; chondriome, appareil vacuolaire et granulations lipoïdes (*Arch. Biol.*, t. XXXI, p. 82, 7 figures de texte et 4 planches).

176. Une nouvelle espèce de Levure du genre de *Debaryomyces*, *D. Nadsoni*, n. sp. (*Bul. Soc. Mycol. France*, t. XXXVII, p. 35 à 36, 1 figure de texte). En collaboration avec le Dr Péju.

177. Sur les microsomes et les formations lipoïdes de la cellule végétale (*C. R. Acad. Sc.*, 27 juin, t. CLXXII, p. 1676).

178. A propos de l'origine de l'anthocyane (*C. R. Soc. Biol.*, 13 juin, t. LXXXV, p. 98).

179. Sur la formation des chloroplastes dans l'*Elodea canadensis* (*C. R. Soc. Biol.*, 4 juillet, t. LXXXV, p. 462, 1 planche).

180. Sur le chondriome des Conjuguées et des Diatomées (*C. R. Soc. Biol.*, 4 juillet, t. LXXXV, p. 466, 1 planche).

181. Nouvelles observations sur l'origine des plastides dans les Phanérogames (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXXIII, p. 402, 10 planches).

182. Observations cytologiques sur le bourgeon d'*Elodea canadensis* (*C. R. Acad. Sc.*, 1er août, t. CLXXIII, p. 331).

183. Remarques sur la cytologie de l'albumen du Ricin ; origine et évolution des grains d'aleurone (*C. R. Assoc. A. F. A. S.*, *Congrès de Rouen*, pp. 579-583, 1 planche).

1922

184. Origine et évolution du système vacuolaire des cellules végétales et grains d'aleurone (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 1033, 1 planche).

185. Sur la signification des canalicules de Holmgren (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXIV, p. 485, 1 figure). En collaboration avec Mangenot.

186. Sur la signification de l'appareil réticulaire de Golgi (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXIV, p. 485, 1 figure). En collaboration avec Mangenot.

187. Sur la formation des grains d'aleurone et de l'huile dans l'albumen de Ricin (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVI, p. 434, 1 figure).

188. Sur l'origine et la signification des oléoplastes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVI, p. 437, 1 figure).

189. Remarques sur la formation des chloroplastes dans le bourgeon d'*Elodea canadensis* (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXV, p. 283, 1 figure).

190. Observations cytologiques sur un *Leptomitus* et en particulier sur la formation et la germination des zoospores chez les Saprolégniacées (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXV, p. 377, 1 figure).

191. Nouvelles observations sur les Saprolégniacées (*La Cellule*, 1922, t. XXXII, pp. 434-454, 3 planches colorées).

1923

192. Quelques remarques nouvelles sur la cytologie des Levures (*C. R. S. Soc. Biol.*, t. LXXXVIII, p. 517, 1 figure).

193. Sur l' « Autoplastensekret » et le « Mesekret » de Arthur Meyer (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 240). En collaboration avec Mangenot.

194. Sur la coloration vitale des chondriosomes (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 527).

195. Observations cytologiques sur le mode de formation des essences (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXVII, p. 600, 1 figure). En collaboration avec Mangenot.

196. Les chondriosomes dans la cellule végétale. Etat actuel de nos connaissances sur la structure de la cellule (*C. R. Assoc. Anat.*, Réunion de Lyon (pp. 15 à 39, 6 figures de texte).

197. Nouvelles observations sur l'évolution du chondriome dans le sac embryonnaire des Liliacées (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXVII, p. 1138, 1 figure).

1924

198. Nouvelles recherches sur les constituants morphologiques du cytoplasme de la cellule végétale (*Arch. d'Anat. microsc.*, t. XX, p. 210, 15 planches dont 2 colorées et 26 figures de texte).

199. Recherches sur l'évolution du chondriome pendant le développement des grains de pollen et du sac embryonnaire chez les Liliacées et sur la signification des formations ergastoplasmiques (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, t. VI, p. 48, 4 figures de texte et 7 planches).

1925

200. Sur l'instabilité de forme et la permanence des mitochondries (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXX, 1 figure).

201. Nouvelles observations sur la structure des Cyanophycées (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXX, p. 951).

202. La structure de la cellule végétale (*Jubilé de Mendel*, Prague, p. 146-160, 6 figures de texte).

203. Le vacuome de la cellule végétale (*Bull. Hist. appl.*, t. II, p. 18, 5 figures de texte.

204. A propos de la structure des Cyanophycées (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCIII, p. 1504, 1 figure).

1926

205. La structure des *Beggiatoa* et leurs relations avec les Cyanophycées (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCIV, p. 579, 1 figure).

206. Sur les relations du système vacuolaire avec l'appareil de Golgi dans les végétaux (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXII, p 485).

207. Sur l'action des méthodes à imprégnation argentique sur les cellules végétales et sur les relations du vacuome et de l'appareil de Golgi (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXII, p. 714).

208. Appareil de Golgi et canalicules de Holmgren dans la plantule de Pois et leur assimilation aux grains d'aleurone et au vacuome (*C R. Soc. Biol.*, t. XCIV, p. 993, 1 planche).

209. Sur l'action des méthodes à imprégnation osmique sur les cellules végétales. Nouvelle contribution à l'étude de l'appareil de Golgi (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCV, p. 442, 1 figure).

210. Nouvelles recherches sur la structure des Cyanophycées (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXXVIII, p. 178, 1 planche).

211. Sur l'origine des vacuoles (*La Cellule*, t. XXXVI, p. 217-229, 3 planches colorées).

212. Revue des travaux de cytologie parus de 1910 à 1925 (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXXVIII-XXXIX, 230 pages). En collaboration avec Mangenot.

213. Sur la réversibilité de forme du vacuome observée sous l'influence de la plasmolyse (*C R. de l'A. F. A. S.*, Congrès de Lyon, p. 375-379, 1 figure de texte).

1927

214. Observations vitales sur l'instabilité de forme des mitochondries et sur leur permanence (*Bull. biol. France et Belg.*, t. LXI, fasc. 1, 24 pages, 10 figures de texte).

215. Etude d'un Champignon pathogène du genre Monilia (*Ann. Parasit. hum. et compar.*, t. V, n° 1, pp. 48-62, 5 figures de texte). En collaboration avec Brocq-Rousseu et des Cilleuls.

216. Recherches sur l'appareil de Golgi et ses relations avec le vacuome (*Arch. d'Anat. microsc.*, t. XXIII, 98 pages, 12 figures de texte et 11 planches dont 2 colorées).

217. Sur l'action du rouge neutre sur les cellules végétales et sur la coloration vitale du vacuome (*Bull. d'Hist. appl. à la Phys. et à la Pathol.*, t. IV, 9 pages, 5 fig. de texte).

218. Observations cytologiques et taxinomiques sur les Levures du groupe des *Sporobolomyces* (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXIV, p. 617).

219. Cytologie et sexualité du *Spermophthora Gossypii* (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXIV, p. 1189, 1 figure de texte).

220. Sur la cytologie des *Nematospora* (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXV, p. 1510).

221. Le chondriome de la cellule végétale. A propos d'un article récent de M. Pavillard (*Arch. Bot. Bull. mensuel*, n°s 8-9).

222. Les plantes carnivores (*Ann. franco-chin.*, 1er mars, p. 22-27).

1928

223. Quelques faits nouveaux relatifs au développement du *Spermophthora Gossypii* (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXVI, p. 161).

224. Remarques sur la phylogénie des Ascomycètes (*C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXXVI, p. 186-195, 1 figure).

225. A propos des recherches récentes de M. Bowen sur l'appareil de Golgi (*C. R. Acad. Sc.*, t. XCVIII, p. 368).

226. Clef dichotomique pour la détermination des Levures (Le François, éd., Paris, 124 pages, 63 figures de texte).

227. Etudes cytologiques et taxinomiques sur les Levures du genre *Sporobolomyces* (*Bull. Soc. mycol. de France*, t. XLIII, p. 245-257, 6 figures de texte et 1 planche).

228. Recherches sur les Champignons de la stigmatomycose et essai sur la phylogénie des Ascomycètes (*Rev. gén. Bot.*, 12 planches et 42 figures de texte). *Sous presse*.

229. La cellule végétale. Encyclopédie scientifique. Douin, éd. *Sous presse*.

230. Etat actuel de la question du vacuome. *Sous presse*.

231. Analyses *in* : *Bull. de l'Inst. Pasteur*, *Rev. gén. Bot.*, *Centralbl. f. Bakteriol.* et *Année Biologique*.

LISTE DES TRAVAUX EFFECTUÉS DANS LE LABORATOIRE

SOUS LA DIRECTION DE M. GUILLIERMOND

J. VILLARD. — Contribution à l'étude cytologique des Zoochlorelles (*C. R. Acad. Sc.*, t. CXXXVI, 1903).

H. RAJAT. — *Le Champignon du Muguet*, Thèse de Doct. en Méd., Lyon, 1906.

H. MARCHAND. — Sur la conjugaison des ascospores chez quelques Levures (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXII, 1912).

— Nouveaux cas de conjugaison des ascospores chez les Levures (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, 1912).

— La conjugaison des ascospores chez les Levures (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXV, 1912).

J. TURCHINI. — Rôle de l'hétérocyste chez les Nostocacées (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXX, 1918).

G. RICHARD. — *Recherches cytologiques et expérimentales sur les Corynébactéries* (Bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques). Etudes sur les corpuscules métachromatiques (Thèse de Doct. en Méd., Lyon, 1920).

G. MANGENOT. — Sur la formation des asques chez l'*Endomyces Lindneri* (Saito) (*C. R. Soc. Biol.*, 15 mars 1919).

— Sur la formation des asques chez les *Endomyces* Lindner (Saito) (*C. R. Soc. Biol.*, 10 mai 1919).

— Sur l'évolution du chondriome et des plastes chez les Fucacées (*C. R. Ac. Sc.*, 5 janvier 1920).

— Sur l'évolution du chondriome et des plastes chez les Fucacées (*C. R. Ac. Sc.*, 19 janvier 1920).

— Sur l'évolution du chondriome et des plastes dans l'anthéridie des Fucacées (*C. R. Soc. Biol.*, mars 1920).

— A propos du chondriome des *Vaucheria* (*C. R. Ac. Sc.*, juin 1920).

— Sur l'évolution du chondriome et des chromatophores des Floridées (*C. R. Ac. Sc.*, juin 1920).

— Sur les mitochondries dans les cellules animales et végétales [avec Emberger] (*C. R. Soc. Biol.*, mars 1920).

— Sur les formations graisseuses des *Vaucheria* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 1920).

— Sur les grains de fucosane (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXII, 1921).

— Sur l'anthérozoïde des *Fucus* (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXII, 1921).

G. Mangenot. — Sur l'amidon des Floridées (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 1921).
— Recherches sur le cytoplasme des Algues (*Arch. Morphol. gén. et expér.*, 1921). Thèse de Doct. ès Sc. de la Sorbonne.
— A propos de quelques formes peu connues d'Endomycétacées (*Bull. Soc. Myc.*, 1922).
— Sur l'amidon des Algues Floridées (*C. R. Ac. Sc.*, 1923).
— Sur la cytologie des Laminaires (*C. R. Soc. Biol.*, 1923).
— Sur les communications cytoplasmiques dans l'appareil sporogène de quelques Floridées (*Rev. Algol.*, 1924).
— Sur le mode de formation des grains d'amidon dans les laticifères des Euphorbiacées (*C. R. Ac. Sc.*, 1925).
— Communications intercellulaires et synapses (*Bull. Hist. Appl. physiol.*, 1926).
— Etat actuel de la question du chondriome (*Bull. Hist. Appl. à la Physiol.*, 1926).
— Sur la signification du stigma des Euglènes (*C. R. Soc. Biol.*, 1927).
— Sur l'existence d'un dispositif fonctionnel remarquable dans les orifices des cribles libériens (*C. R. Ac. Sc.*, 1927).
— Note bibliographique sur la Sensitive (*Mimosa pudica*) (*C. R. Ac. Sc.*, 1927).
— Sur la présence de vacuoles spécialisées dans les Monotropes (*C. R Ac. Sc.*, 1927).
— Sur la signification des cristaux rouges apparaissant sous l'influence du bleu de crésyl dans les cellules de certaines algues (*C. R. Ac. Sc.*, 1927).
— Sur la localisation des peroxydases dans les cellules végétales (*C. R. Ac. Sc.*, 1928).

Emberger. — Sur l'évolution du chondriome dans la racine des Fougères (*C. R. Ac. Sc.*, 1920).
— Sur l'évolution du chondriome dans les sporanges des Fougères (*C. R. Soc. Biol.*, 1920).
— Recherches cytologiques sur les Sélaginelles (*C. R. Ac Sc.*, 1920).
— Etude du chondriome dans les organes sexuels des Fougères (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, 1920).
— Recherches sur l'origine et l'évolution des plastides chez les Ptéridophytes, Contribution à l'étude cytologique de la cellule végétale (*Arch. de Morphol. gén. et exp.*, 1921. *Thèse de Doct. ès Sc. de la Faculté de Lyon*).

R. Noel. — Sur l'élaboration de grains de sécrétion par le chondriome de la cellule hépatique chez la Grenouille (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 1921).
— Sur quelques attitudes fonctionnelles du chondriome de la cellule hépatique (*C. R. Ac. Sc.*, t. CLXII, 1921).

Grigoraki et Peju. — Sur une nouvelle espèce de Levure du genre *Debaryomices* : *D. Matruchoti* (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 1921).

Grigoraki et Peju. — Etude de quelques espèces nouvelles de Levures isolées de certains exsudats pathologiques de l'homme (*Bull. Soc. mycol.*, 1922).
— Quelques espèces nouvelles du genre *Torula* (*Bull. Soc. mycol.*, 1922).
— Les Champignons parasites du syndrome de Beurmann et Gougerot et l'espèce *Rhinocladium Gougeroti* (*Bull. Soc. mycol.*, 1924).
— Contributions à l'étude des Dermatophytes (*C. R. Ac. Sc.*, 1925).
— Recherches cytologiques et taxinomiques sur les Dermatophytes et quelques autres Champignons parasites (*Ann. Sc. nat. Bot.*, 1925).

Da Fonseca. — Sobre os agentes das Blastomycoses europeas cyclo sexuado e posicao systematico do Lavedo de Hudelo (*Brasil medico*, 1922).
— Sur une Levure isolée d'une Dermatomycose (*C. R. Soc. Biol.*, 1923).

Ota. — Cinq espèces de Levures considérées comme pathogènes appartenant au genre *Debariomyces* (Klocker) (*Arch. de Paras.*, 1924).

Petit. — Sur la cytologie de deux Bactéries (*C. R. Ac. Sc.*, 1921).
— Observations cytologiques sur la structure du bacille du Charbon et du bacille diphtérique (*C. R. Soc. Biol.*, 1924.
— Contribution à l'étude cytologique et taxinomique des Bactéries (*C. R. Ac. Sc.*, 1926).
— Contribution à l'étude cytologique et taxinomique des Bactéries (*Thèse*, Sorbonne, 1928).

Li Koue Tchang. — Sur quelques points particuliers de l'évolution des plastes dans les graines des Légumineuses (*C. R. Soc. Biol.*, 1923).
— Recherches sur l'évolution des plastes dans les graines de Légumineuses (*Bull. Soc. Bot.*, 1924).
— L'origine des inclusions graisseuses chez quelques Algues (*C. R. Soc. Biol.*, 1924).

Papadakis. — Sur une copulation hétérogamique observée dans *Willia farinosa* (*C. R. Soc. Biol.*, 1922).

Chaze. — Essai d'une culture pure d'une Saprolégniacée (*C. R. Ac. Sc.*, 1924).
— Essai d'une culture pure d'une Saprolégniacée (*Bull. Soc. Mycol.*, 1925).
— Sur l'apparition et la localisation de la nicotine dans la plantule de Tabac (*C. R. Ac. Sc.*, 1927).

Mlle Popovici. — Sur la formation des essences (*C. R. Ac. Sc.*, 1925).
— Contribution à l'étude cytologique des laticifères (*C. R. Ac. Sc.*, 1926).
— Nouvelle méthode de coloration du noyau par le vert Janus (*C. R. Soc. Biol.*, 1926).
— Sur l'origine, la détection et le rôle des essences végétales (*Bull. Hist. appl. à la physiol. et à la path.*, 1927).
— Quelques remarques sur les élaïoplastes des Hépatiques (*C. R. Ac. Sc.*, 1927).

Ozawa. — A propos des fixateurs du chondriome (*Note préliminaire*) (*Rev. Gén. Bot.*, t. XXXIX, 1927, p. 218-232 et pl. 5-8).

Dufrénoy. — Sur la cytologie de *Blepharospora cambivora* (*C. R. Soc. Biol.*, 1922).

DUFRÉNOY. — Modifications cytologiques des poils des feuilles de *Drosera roduntifolia* (*C. R. Soc. Biol.*, 1927).

— Levures de la fermentation en eau de mer des cédrats de Corse (*Bull. Soc. Mycol.*, 1927).

EICHHORN. — La mesure du pH cytoplasmique des Végétaux ; les méthodes, les résultats (*Bull. Hist. appliquée à la physiol. et à la path.*, 1927).

— Sur la caryocinèse somatique de l'*Equisetum arvense* et de l'*Equisetum maximum* (*C. R. Soc. Biol.*, 1927).

— Prophase et métaphase de la mitose somatique chez *Pinus pinea* et *Pinus Halepensis* (*C. R. Soc. Biol.*, 1927).

— Sur divers stades de la métose de l'*Hyacinthus orientalis* et, comparativement, de l'*Allium cepa* (*C. R. Ac. Sc.*, 1928).

TSEN CHENG. — Sur les modifications histopathologiques contractées chez la Pomme de Terre (*Solanum tuberosum*) atteinte de dégénérescence (Maladie de l'enroulement) (*C. R. Ac. Sc.*, 1928).

— Sur les phénomènes de nécrose observés dans la Pomme de Terre atteinte d'enroulement (*C. R. Ac. Sc.*, 1928).

MILOVIDOV. — Sur une méthode de coloration des Bactéries symbiotes (*C. R. Soc. Biol.*, 1928).

— Recherches sur les tubercules du Lupin (*Rev. gén. Bot.*, t. XL, 1928, p. 193-205 et 2 fig.).

TABLE DES MATIÈRES